



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**EXPRESIÓN GENÉTICA ASOCIADA AL ESTRÉS
AMBIENTAL EN LOS ORGANISMOS ACUÁTICOS,
Trichechus manatus manatus Y PECES HERBÍVOROS
QUE COMPARTEN ECOSISTEMA**

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE

**DOCTOR EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA Y MANEJO DE
SISTEMAS TROPICALES**

PRESENTA

M.C.A. GUADALUPE GÓMEZ CARRASCO

BAJO LA DIRECCION DE:

DRA. JULIA MARÍA LESHER GORDILLO

EN CODIRECCIÓN DE:

DR. LEÓN DAVID OLIVERA GÓMEZ

VILLAHERMOSA, TABASCO, A 18 DE MAYO DE 2026

Declaración de Autoría y Originalidad

En la Ciudad de Villahermosa, el día 30 del mes de abril del año 2026, el que suscribe **MCA. Guadalupe Gómez Carrasco** alumna del Programa de Doctorado en Ciencias en Ecología y Manejo de Sistemas Tropicales con número de matrícula **192G26003**, adscrito a la División Académica de Ciencias Biológicas, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como autora de la Tesis presentada para la obtención del grado de Doctor y titulada "**Expresión genética asociada al estrés ambiental en los organismos acuáticos, *Trichechus manatus manatus* y peces herbívoros que comparten ecosistema**", dirigida por la **Dra. Julia María Leshner Gordillo** y el **Dr. León David Olivera Gómez**.

DECLARO QUE:

La Tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la LEY FEDERAL DEL DERECHO DE AUTOR (Decreto por el que se reforman y adicionan diversas disposiciones de la Ley Federal del Derecho de Autor del 01 de Julio de 2020 regularizando y aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita. Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad o contenido de la Tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

Villahermosa, Tabasco a 30 de abril de 2026.



M.C.A. Guadalupe Gómez Carrasco



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2026
año de
**Margarita
Maza**

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN

MAYO 12 DE 2026

**C. GUADALUPE GÓMEZ CARRASCO
PAS. DEL DOCTORADO EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA Y
MANEJO DE SISTEMAS TROPICALES
P R E S E N T E**

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. Arts. 74 al 77 del Cap. IV del Reglamento General de Estudios de Posgrado de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis de Doctorado en Ciencias en Ecología y Manejo de Sistemas Tropicales titulado: **"EXPRESIÓN GENÉTICA ASOCIADA AL ESTRÉS AMBIENTAL EN LOS ORGANISMOS ACUÁTICOS, TRICHECHUS MANATUS MANATUS Y PECES HERBÍVOROS QUE COMPARTEN ECOSISTEMA"**, asesorado por la Dra. Julia María Leshner Gordillo y Dr. León David Olivera Gómez, sobre el cual sustentará su Examen de Grado, cuyo jurado está integrado por el Dr. Benjamín Morales Vela, Dra. Salima Machkour-M´Rabet, Dra. Julia María Leshner Gordillo, Dra. Ena Edith Mata Zayas, Dr. Ulises Hernández Vidal, Dr. Guillermo Castañón Nájera y Dr. Wilfrido Miguel Contreras Sánchez.

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE

DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR

UJAT
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente del Alumno.
C.c.p.- Archivo

Villahermosa, Tabasco, a 06 de mayo 2026.

Carta de Cesión de Derechos

Por medio de la presente manifestamos haber colaborado como AUTOR(A) y/o AUTORES(RAS) en la producción, creación y/o realización de la obra denominada: **“Expresión genética asociada al estrés ambiental en los organismos acuáticos, *Trichechus manatus manatus* y peces herbívoros que comparten ecosistema”**.

Con fundamento en el artículo 83 de la Ley Federal del Derecho de Autor y toda vez que, la creación y/o realización de la obra antes mencionada se realizó bajo la comisión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; entendemos y aceptamos el alcance del artículo en mención, de que tenemos el derecho al reconocimiento como autores de la obra, y la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco mantendrá en un 100% la titularidad de los derechos patrimoniales por un periodo de 20 años sobre la obra en la que colaboramos, por lo anterior, cedemos el derecho patrimonial exclusivo en favor de la Universidad.

COLABORADORES



Guadalupe Gómez Carrasco
Alumna



Dra. Julia María Leshner Gordillo
Directora

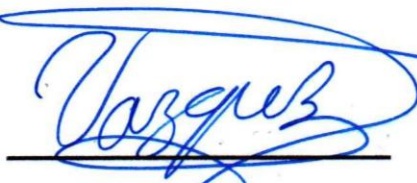


Dr. León David Olivera Gómez
Cofdirector

TESTIGOS



Dr. Guillermo Castañón Najera



Dra. Lucero Vázquez Cruz



UJAT

UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

“ ESTUDIO EN LA VERDAD. ACCIÓN EN LA FE ”



2026
año de
Margarita
Maza

**División Académica de Ciencias Biológicas
DIRECCIÓN**

Villahermosa, Tabasco a 11 de mayo de 2026

C. GUADALUPE GÓMEZ CARRASCO
EGRESADA DEL DOCTORADO EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA
Y MANEJO DE SISTEMAS TROPICALES
PRESENTE

En cumplimiento de los lineamientos de la Universidad, y por instrucciones de la Dirección de Posgrado, se implementó la revisión de los trabajos recepcionales (tesis), a través de la plataforma Turnitin iThenticate para evitar el plagio e incrementar la calidad en los procesos académicos y de investigación que se desarrollan en esta División Académica. Esta revisión se realizó en correspondencia con el Código de Ética de la Universidad, el Reglamento General de Estudios de Posgrado, el Código Institucional de Ética para la Investigación y con los requerimientos para los posgrados registrados en el SNP de la SECIHTI.

Por este conducto, hago de su conocimiento que, con el objetivo de fortalecer y enriquecer el programa de posgrado, se realizó la revisión del documento en la plataforma iThenticate, obteniendo el reporte de originalidad, el índice de similitud y se emitieron las siguientes sugerencias y recomendaciones para dar seguimiento en el documento de tesis del proyecto de investigación titulado: **Expresión genética asociada al estrés ambiental en los organismos acuáticos, *Trichechus manatus manatus* y peces herbívoros que comparten ecosistema.**

OBSERVACIONES:

1. **El índice de similitud general obtenido fue de 01%**, el cual se ubica dentro del estándar de tolerancia de acuerdo a las Políticas y Lineamientos para el uso y manejo del Software Antiplagio de la UJAT. Se demuestra el nivel de originalidad del documento y de la investigación.
2. Aun que el índice de similitud obtenido indica coincidencias con 14 fuentes de consulta (incluyendo fuentes de internet y publicaciones), éstas se refieren a frases en las secciones de Marco Teórico y Métodos. Lo anterior no demerita el documento de tesis.



KM 0.5 CARR. VILLAHERMOSA-CÁRDENAS ENTRONQUE A BOSQUES DE SALOYA
VILLAHERMOSA, CENTRO, TABASCO, MEX.

Tel. (993) 358-1500 Ext. 6400 e-mail: direccion.dacbiol@ujat.mx

Usar papel reciclado economiza energía, evita contaminación y despilfarro de agua y ayuda a conservar los bosques

www.ujat.mx



UJAT

UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

“ ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE ”



2026
año de
Margarita
Maza

**División Académica de Ciencias Biológicas
DIRECCIÓN**

3. **Se adjunta el informe de originalidad de la tesis** obtenido a través de la herramienta Turnitin iThenticate.
4. Finalmente, se le solicita a la C. GUADALUPE GÓMEZ CARRASCO, integrar en la versión final de tesis, este oficio y el informe de originalidad con el porcentaje de similitud de Turnitin iThenticate de acuerdo con lo señalado en los Lineamientos institucionales para la elaboración de tesis de posgrado.

Sin otro particular al cual referirme, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE”

DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR

UJAT
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

C.C.P. Dra. Julia María Leshner Gordillo. Directora de tesis.
Dr. León David Olivera Gómez – Codirector de tesis
Archivo



KM 0.5 CARR. VILLAHERMOSA-CÁRDENAS ENTRONQUE A BOSQUES DE SALOYA
VILLAHERMOSA, CENTRO, TABASCO, MEX.

Tel. (993) 358-1500 Ext. 6400 e-mail: direccion.dacbiol@ujat.mx

Usar papel reciclado economiza energía, evita contaminación y despilfarro de agua y ayuda a conservar los bosques

www.ujat.mx

Guadalupe Gómez Carrasco

Expresión genética asociada al estrés ambiental en los organismos acuáticos, *Trichechus manatus manatus* y peces h...

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::3117:588102569

Fecha de entrega

8 may 2026, 2:01 p.m. GMT-6

Fecha de descarga

8 may 2026, 2:17 p.m. GMT-6

Nombre del archivo

TESIS DEST-Expresión genética manatí y peces-GGC 2026.pdf

Tamaño del archivo

4.1 MB

158 páginas

41.163 palabras

236.494 caracteres

1% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...




Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Coincidencias menores (menos de 16 palabras)

Exclusiones


- ▶ N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 1%  Fuentes de Internet
- 0%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad




N.º de alerta de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**
307 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Fuentes principales

- 1%  Fuentes de Internet
- 0%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Fuentes principales

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	Publicación	M.D. Pinazo-Durán, K. Shoaie-Nia, S.M. Sanz-González, J. Raga-Cervera et al. "Iden...	<1%
2	Internet	www.mdpi.com	<1%
3	Internet	hdl.handle.net	<1%
4	Internet	www.jove.com	<1%
5	Internet	islandscholar.ca	<1%
6	Internet	es.scribd.com	<1%
7	Internet	ecosur.repositorioinstitucional.mx	<1%
8	Internet	ru.dgb.unam.mx	<1%
9	Internet	dgsa.uaeh.edu.mx:8080	<1%
10	Internet	eprints.uanl.mx	<1%
11	Internet	semahn.chiapas.gob.mx	<1%

12	Internet	metafisicauniversal.blogspot.com	<1%
13	Internet	revistas.ujat.mx	<1%
14	Internet	acervodigital.ufpr.br	<1%

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
México

Dedicatoria

A DIOS

A MIS PADRES

A MI ESPOSO

A LOS MANATÍES DEL MUNDO

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México

Agradecimientos

A mi directora de tesis la Dra. Julia María Lesher Gordillo, por la confianza que deposito en mi para realizar el doctorado bajo su dirección y por darme la oportunidad de trabajar en el laboratorio de Genómica. Por su apoyo incondicional y consejos para mejorar esta tesis.

A mi codirector de tesis el Dr. León David Olivera Gómez, por la confianza brindada como su estudiante de doctorado, por su ayuda para realizar los análisis estadísticos de este trabajo de tesis. Por su apoyo incondicional y consejos para mejorar esta tesis.

A los integrantes de mi comité de tesis: al Dr. José Benjamín Morales Vela, le agradezco su valioso apoyo para la colecta de muestras de los manatíes de la Bahía Chetumal, por el apoyo económico para la compra de reactivos y la revisión de este trabajo de tesis. Gracias a la Dra. Salima Machkour-M'Rabet por sus minuciosas revisiones de los artículos científicos que enriquecieron mucho el trabajo y por su ayuda para la publicación del artículo. Gracias a la Dra. Patricia Ramos Morales† que descansa en paz. Gracias al Dr. Ulises Hernández Vidal, a la Dra. Ena Edhit Mata Zayas, al Dr. Guillermo Castañón Nájera y al Dr. Wilfrido Miguel Contreras Sánchez por su tiempo para realizar la revisión de esta tesis.

Agradezco al Dr. Erick de la Cruz-Hernández, de la DAMC-UJAT, por enseñarme a realizar los análisis de expresión genética y permitirme trabajar en su laboratorio. Gracias al Dr. Gilberto Pozo Montuy por su ayuda para la publicación del artículo científico.

Gracias al Secihti por la beca de Doctorado. Gracias a ECOSUR Chetumal, a Sac-Tun, al CCYTET y a la secretaria de Bienestar de Tabasco, por su apoyo para la colecta de muestras y compra de reactivos para el desarrollo de esta tesis.

Gracias a mis compañeros del Laboratorio de Genómica.

Descripción	Contenido	Pág.
Resumen		1
Capítulo I	Protocolo de Tesis	3
Capítulo II	Estrés ambiental en el bagre acorazado silvestre <i>Pterygoplichthys spp.</i> mediante la expresión del gen <i>CYP1A</i>	46
Capítulo III	Niveles de expresión de genes asociados con el estrés ambiental en manatíes del sur del Golfo de México y el Caribe	78
Capítulo IV	Patrones de expresión génica en <i>Ctenopharyngodon idella</i> en respuesta a estrés ambiental en el Sur del Golfo de México	111
Capítulo V	Comparación de los patrones de expresión genética entre peces y manatíes y entre los sitios de estudio: Implicaciones para la conservación	135
Capítulo VI	Conclusiones y recomendaciones generales	145
Anexos		150
Índice de tablas		
Tabla II-1	Número de muestras recolectadas por temporada y localidad	56
Tabla II.-2	Resumen de los valores de Ct del gen <i>CYP1A</i> en el bagre acorazado	64
Tabla II-3	Resumen de los valores de Ct del gen <i>GAPDH</i> en el bagre acorazado	64
Tabla III-1	Parámetros de pendiente, coeficiente de correlación (r^2) y eficiencia obtenidos a partir de qPCR para todos los genes analizados para <i>Trichechus manatus manatus</i>	109
Tabla III-2	Clasificación de la estabilidad de la expresión de dos genes de referencia en muestras de <i>Trichechus manatus manatus</i>	109
Tabla III-3	Oligonucleótidos para el estudio de la expresión génica diseñados específicamente para <i>Trichechus manatus</i>	110
Tabla IV-1	Número de muestras colectadas durante la temporada de secas y lluvias	119
Tabla IV-2	Oligonucleótidos para el estudio de la expresión génica de <i>C. idella</i>	121
Índice de figuras		
Figura I-1	Distribución actual del manatí en México	8

Figura I-2	Morfología externa del manatí Antillano	9
Figura I-3	Modelo clásico para la inducción de <i>CYP1A</i> , mediada por el receptor de hidrocarburos de arilo (AhR)	18
Figura I-4	Vía general de biotransformación de xenobióticos. Función de Glutación S-Transferasas, en la fase II de biotransformación	20
Figura I-5	Posibles mecanismos de regulación de la expresión del gen de metalotioneína	22
Figura II-1	Resumen gráfico	49
Figura II-2	Localidades de muestreo en la cuenca baja del río Grijalva-Usumacinta en la llanura costera del Golfo de México, en el Estado de Tabasco, México	55
Figura II-3	Bagre acorazado recolectado en la cuenca baja del río Grijalva-Usumacinta	56
Figura II-4	Expresión del gen <i>CYP1A</i> entre localidades agrupadas por estación	59
Figura III-1	Gel de agarosa (2 %) de productos amplificados por PCR para <i>GAPDH</i> y <i>ACTB</i> , los genes de referencia candidatos. Escalera de ADN (DNA Ladder) de 100 pb como referencia	85
Figura III-2	Representación en diagrama de caja de los niveles de expresión relativa de los genes <i>MT2</i> , <i>CYP1A1</i> , <i>ARNT</i> y <i>GSTP1-1</i> para <i>Trichechus manatus manatus</i> entre los sitios de muestreo	87
Figura III-3	Representación en diagrama de caja de los niveles de expresión relativa de los genes <i>MT2</i> , <i>CYP1A</i> , <i>ARNT</i> y <i>GSTP1-1</i> para diferentes muestras de tejido de <i>Trichechus m. manatus</i>	88
Figura III-4	Mapa de los sitios de muestreo de manatíes en esta investigación	95
Figura IV-1	Localidades de muestreo de <i>C. idella</i> en la cuenca baja del río Grijalva-Usumacinta en la llanura costera del Golfo de México, en el Estado de Tabasco, México	118
Figura IV-2	Expresión génica entre localidades agrupadas por estación	122

EXPRESIÓN GENÉTICA ASOCIADA AL ESTRÉS AMBIENTAL EN LOS ORGANISMOS ACUÁTICOS, *Trichechus manatus manatus* Y PECES HERBÍVOROS QUE COMPARTEN ECOSISTEMA

Resumen

En México la subespecie *Trichechus manatus manatus*, se encuentra en peligro de extinción. En el estado de Tabasco, se presentó una mortandad inusual de manatíes, donde al menos 48 organismos murieron y asociada también con la muerte de los peces carpa herbívora y el pez diablo. La causa exacta de muerte no fue definida en su totalidad. El objetivo de este trabajo fue comparar la expresión de los genes de interés *CYP1A*, *ARNT*, *MT2* y *GSTP1-1*, en poblaciones de manatíes de algunas regiones de México y dos especies de peces herbívoros que comparten hábitat, como biomarcadores de estrés ambiental. Se aisló ARN de muestras de hígado en los peces y en manatíes se analizaron muestras de sangre, piel e hígado. Se usó PCR cuantitativa para los análisis de expresión génica. La expresión del gen *MT2* en las poblaciones de manatíes mostró diferencias significativas entre los sitios de estudio; la población de la subcuenca del río Grijalva (GRB) presentó los niveles más altos; por el contrario, en los peces, este gen no exhibió variaciones importantes entre las localidades evaluadas. El gen *CYP1A* se expresó significativamente en carpas y peces diablo de la subcuenca del río Grijalva (RA-G y Bit-G), a diferencia de los manatíes, donde no se observaron valores significativos. Se propone el uso de los biomarcadores moleculares validados en este trabajo, para el biomonitoreo ambiental de las poblaciones de manatíes en México y de las especies con las que comparte hábitat. Además, se recomienda el uso de los peces analizados en este estudio como bioindicadores de estrés ambiental.

Palabras clave: manatí, carpa herbívora, pez diablo, Bahía Chetumal, Cuenca Grijalva-Usumacinta, expresión genética, desintoxicación celular, contaminación, hidrocarburos aromáticos policíclicos, metales pesados.



Abstrac

In Mexico, the subspecies *Trichechus manatus manatus* is endangered. In the state of Tabasco, an unusual manatee dies off occurred, in which at least 48 individuals died, and which was also associated with the deaths of herbivorous carp and devil fish. The exact cause of death was not fully determined. The objective of this study was to compare the expression of the genes of interest *CYP1A*, *ARNT*, *MT2*, and *GSTP1-1* in manatee populations from certain regions of Mexico and two species of herbivorous fish that share the same habitat, as biomarkers of environmental stress. RNA was isolated from liver samples in the fish, and blood, skin, and liver samples were analyzed in the manatees. Quantitative PCR was used for gene expression analysis. The expression of the *MT2* gene in manatee populations showed significant differences among study sites; the population in the Grijalva River sub-basin (GRB) exhibited the highest levels; in contrast, in the fish, this gene did not show significant variations among the evaluated locations. The *CYP1A* gene was significantly expressed in carp and devilfish from the Grijalva River sub-basin (RA-G and Bit-G), unlike in manatees, where no significant values were observed. We propose the use of the molecular biomarkers validated in this study for the environmental biomonitoring of manatee populations in Mexico and of the species with which they share their habitat. Furthermore, we recommend the use of the fish analyzed in this study as bioindicators of environmental stress.

Key words: manatee, herbivorous carp, devilfish, Chetumal Bay, Grijalva-Usumacinta Basin, gene expression, cellular detoxification, pollution, polycyclic aromatic hydrocarbons, heavy metals.



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

CAPÍTULO I.

PROTOCOLO DE TESIS



Introducción

Trichechus manatus se encuentra catalogada como especie vulnerable por la lista roja de la Unión Internacional para Conservación de la Naturaleza (IUCN) (Deutsch y Morales-Vela, 2024). Las mayores amenazas de los manatíes en toda su área de distribución son antrópicas (Mignucci-Giannoni et al., 2000). La subespecie *Trichechus manatus manatus*, que se distribuye en México, se encuentra bajo el estatus de peligro de extinción por la IUCN (Morales-Vela et al., 2024) y por las leyes mexicanas (SEMARNAT, 2010).

El manatí en el Golfo de México habita en la cuenca baja de los ríos Grijalva-Usumacinta, esta zona se calcula que tiene la mayor presencia de manatíes (Olivera-Gómez y Domínguez-Jiménez, 2019). En la reserva de la Biosfera de los Pantanos de Centla, se localizan varias subcuencas que enlazan ríos con numerosos arroyos y canales vinculados a lagunas y humedales en donde se desplazan los manatíes. Se estima que el Golfo de México alberga la población más numerosa de manatíes en el país (Nourisson et al., 2011). En estos sistemas acuáticos, los manatíes comparten el hábitat con diversas especies incluyendo peces invasores como, la carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*) y el pez diablo (*Pterygoplichthys spp.*).

Una contingencia ambiental ocurrida en el año 2018 en la subcuenca baja del río Grijalva, en el estado de Tabasco, provocó una mortandad inusual de manatíes, en un corto tiempo, reportando al menos 48 manatíes muertos (Morales-Vela et al., 2018; SEMARNAT/PROFEPA, 2018). Este evento también causó la muerte de dos especies de peces la carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*) y el pez diablo (*Pterygoplichthys spp.*). El factor común de esta muerte inusual de manatíes y peces fue la alimentación, ya que estas especies consumen plantas y sus epifitas.



Este suceso evidenció el riesgo que enfrenta la población de manatíes del Golfo de México, así como su limitada capacidad de respuesta. Esto probablemente sea causado por la falta de plasticidad genética, ante los estresores ambientales, principalmente de tipo antropogénicos a los que se encuentran expuestos en su hábitat. Esta contingencia, dejó preguntas sin responder, particularmente sobre qué fue lo que desencadenó la muerte masiva de los manatíes.

Aunque el estudio de los manatíes en México ha avanzado, el conocimiento sobre su genética poblacional en el Golfo de México sigue siendo limitado. La evidencia disponible para las poblaciones del Golfo de México revela una estructura poblacional caracterizada por una baja diversidad y un flujo genético reducido (Nourisson et al., 2011; Gómez-Carrasco et al., 2018). Estas condiciones genéticas sugieren un estado de vulnerabilidad biológica que requiere atención prioritaria en las estrategias de protección de estas poblaciones.

Los análisis de expresión genética tienen aportan información sobre la salud y la detección temprana de enfermedades. Las alteraciones en los niveles de transcripción de un gen pueden indicar los primeros signos visibles de deterioro de la salud (Bonde et al., 2012; Bowen et al., 2016). A partir de los estudios de la expresión genética es posible obtener información sobre el medio ambiente y la respuesta fisiológica del organismo, mediante la identificación de genes que responden a factores estresantes ambientales y antropogénicos específicos (Vandersteen Tymchuk et al., 2010). Con el reconocimiento de las funciones de los genes que se regulan diferencialmente, es factible inferir como los procesos fisiológicos están reaccionando a los cambios ambientales de forma adaptativa o desadaptativa (Trego et al., 2019). En conjunto, estos análisis contribuyen en la predicción de perturbaciones de las vías de señalización y funciones celulares y, estas perturbaciones a su vez deben vincularse a procesos más integrados como el desarrollo, la reproducción y la supervivencia. Se han encontrado familias de enzimas que codifican genes asociados a la desintoxicación celular (Lushchak,



2011), entre ellas se encuentran las enzimas del *Citocromo P450 (P450)*, *ARNT*, *Glutación S-Transferasa (GST)* y las metalotioneínas (*MT*).

La pregunta sin responder sobre lo que desencadenó la mortandad inusual de manatíes fue lo que motivó este trabajo de tesis doctoral. Quizás no sea posible dar una respuesta exacta, pero si aportar información que ayude a comprender cómo están respondiendo los manatíes (sus genes) ante el aumento de estresores ambientales. Por lo tanto, el objetivo de esta propuesta es estimar la expresión de los genes *MT2*, *CYP1A1*, *ARNT* y *GSTP1-1* asociados con el metabolismo de xenobióticos (sustancias químicas de origen sintético) en poblaciones de manatíes en México y en dos especies de peces herbívoros con los que comparte ecosistema. Estos genes se seleccionaron debido a que los inductores a los que responden forman parte de los estresores ambientales más frecuentes a los que estas especies están expuestas en los sitios de estudio. Con los datos derivados de este estudio, se espera obtener una mayor comprensión de los mecanismos de expresión génica en los manatíes, así como de su capacidad de respuesta para eliminar tóxicos, y contribuir en anticipar el riesgo para estas especies ante eventuales contingencias ambientales. Se prevé que la frecuencia de estos eventos aumente debido al Cambio Climático Global, impulsada principalmente por las variaciones en la temperatura, las precipitaciones y las sequías prolongadas. Si bien aún no se comprende con precisión cómo responde la biota al cambio global, el estudio de los biomarcadores moleculares es clave para la comprensión, gestión y mitigación de daños en los ecosistemas acuáticos.



Marco teórico

Distribución espacial

Trichechus manatus manatus

Los manatíes son mamíferos acuáticos y herbívoros pertenecientes al orden Sirenia y a la familia Trichechidae (Hartman, 1979).

La familia Trichechidae, está representada por tres especies: *Trichechus manatus*, *Trichechus inunguis* y *Trichechus senegalensis*. El manatí de las indias occidentales (*Trichechus manatus*) está compuesta por dos subespecies: el manatí de Florida (*Trichechus manatus latirostris*) y el manatí Antillano (*Trichechus manatus manatus*) (Mignucci-Giannoni et al., 2024). El manatí de Florida se distribuye en el sureste de los Estados Unidos de América, en la península de Florida debido a su necesidad de estar en aguas cálidas durante el invierno. Durante los meses que no son de invierno algunos manatíes se dispersan a otros estados costeros del sureste (Deutsch y Valade, 2024). El manatí Antillano se distribuye desde México, Centroamérica, las Antillas Mayores y la costa caribeña de Sudamérica hasta el noreste de Brasil (Morales-Vela et al., 2024).

La presencia del manatí en México se concentra en las zonas de ríos y lagunas del Golfo de México y la costa del Caribe (Morales-Vela et al., 2003). Actualmente el manatí se distribuye en la costa de Quintana Roo: en las bahías de Chetumal, Ascencio y espíritu Santo. Y en el Golfo de México: en Tabasco, Chiapas, Campeche y Veracruz (Figura I-1) (Ladrón de Guevara Porras et al., 2019; Olivera-Gómez et al., 2022; Morales-Vela y Bahena-Basave, 2023). En el norte de Campeche y en el litoral de Yucatán los manatíes su presencia es de paso con visitas de corta duración; los avistamientos en Tamaulipas y el norte de Veracruz son inciertos o de vagabundeo (Figura I-1) (Semarnat, 2020; Morales-Vela y Bahena-Basave, 2023).



La última actualización de la población global de manatíes en México se aproxima a un intervalo de entre 1,100 y 1,200, de los cuales 850 a 900 manatíes se distribuyen en el Golfo de México y de 250 a 300 en la costa de Quintana Roo (Morales-Vela y Bahena-Basave, 2023).

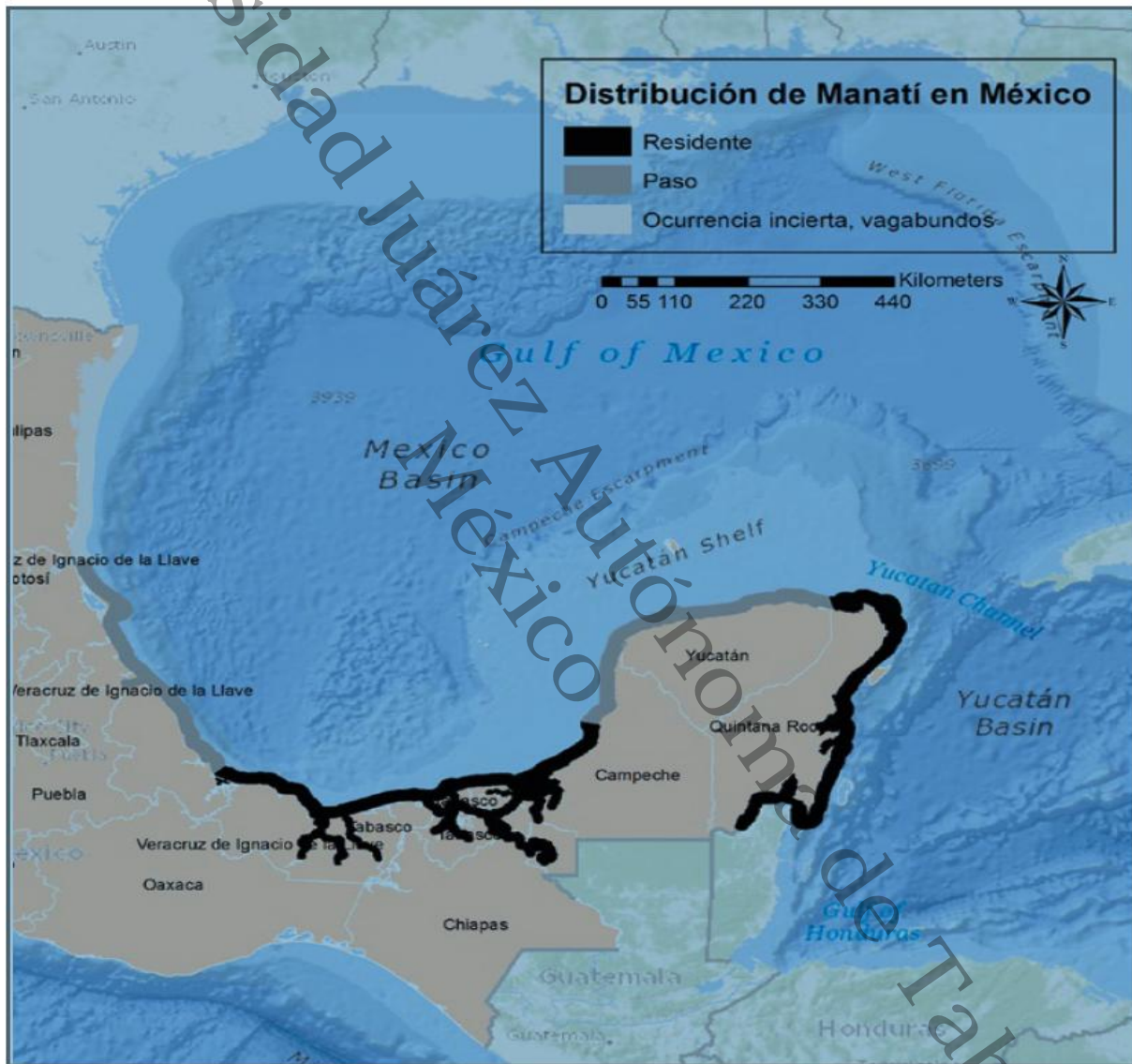


Figura I-1. Distribución actual del manatí en México. Fuente: Mapa elaborado por Benjamín Morales-Vela y Francesca M. Cassola/ECOSUR, 2020.



Características biológicas

La longitud de los manatíes oscila entre 0.9 y 1.0 m, al momento de nacer y en su etapa adulta pueden alcanzar 3 m, o más y pesar 500 kg aproximadamente. Las extremidades anteriores están modificadas en aletas pectorales, con la presencia de tres a cuatro uñas (Marshall et al., 2000).

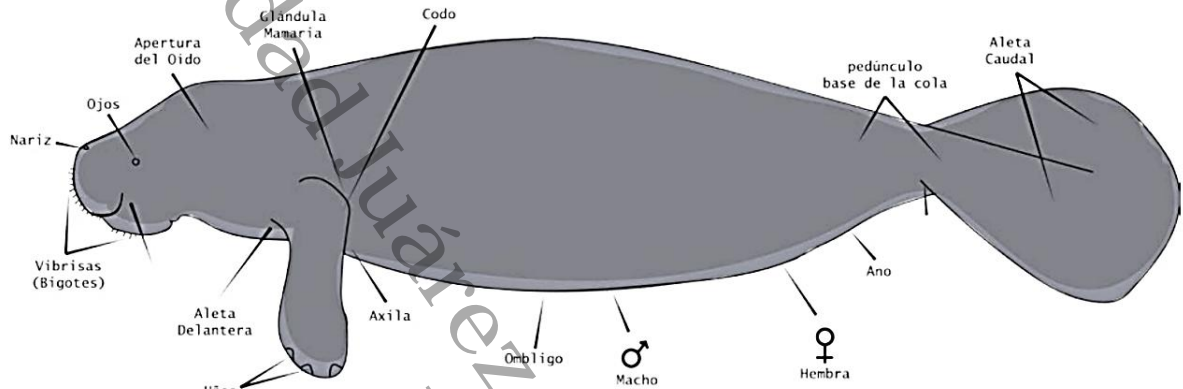


Figura I-2. Morfología externa del manatí Antillano. Fuente: Gulland et al., 2018.

Los manatíes tienen una tasa de natalidad baja, asociada con una madurez sexual tardía, entre los tres, cinco y seis años (Reep y Bonde, 2006); su período de gestación es de 11 a 14 meses. Se ha observado que cuando la disponibilidad de alimentos disminuye, los manatíes retrasan la reproducción (Marsh et al., 2011).

Los manatíes son uníparos, son muy raros los partos de gemelos (Rathbun et al., 1995). Los nacimientos son principalmente en primavera y principios de verano (Arriaga y Contreras, 1993). La cría pasa alrededor de 2.5 años junto a su madre (Reep y Bonde, 2006).

Los manatíes son los únicos mamíferos marinos herbívoros. Dedican jornadas de seis a ocho horas diarias en su alimentación (Hartman, 1979; Reynolds y Odell, 1991). Las plantas que componen su dieta suelen tener un alto contenido de fibra y bajos porcentajes de proteínas y carbohidratos solubles. Para hacer frente a



lo anterior, un manatí al día consume grandes cantidades de plantas que equivalen del 5 al 10% de su peso corporal (Reep y Bonde, 2006).

La edad del manatí no es posible de determinar como en otros mamíferos, por lo cual se han establecido categorías de edad según su longitud: Neonatos <140 cm; Crías 141-175 cm; Juveniles 176-225 cm y Adultos >226 cm (Mignucci-Giannoni et al., 2000).

No se dispone de registros exactos que definan la esperanza de vida máxima de los manatíes. En cautiverio la edad máxima reportada es de aproximadamente 69 años. El manatí de Florida vive más de 50 años (Reep y Bonde, 2006). En Puerto Rico, se ha informado que los manatíes en estado silvestre viven alrededor de 27 años (Mignucci-Giannoni et al., 2000). Para la subespecie *Trichechus manatus manatus* en México se estima que la esperanza de vida que es alrededor de 30 años (Olivera-Gómez, comunicación personal).

Los manatíes desempeñan un rol ecológico fundamental en la dinámica de los sistemas acuáticos. Regulan el exceso de vegetación, que podría convertirse en plaga. Facilitan el flujo de nutrientes al transformar la materia vegetal. Ayudan a prevenir el azolvamiento de los cuerpos de agua de donde se desplazan. Se les reconoce como especie bandera para la conservación (Rodas-Trejo et al., 2008).

Estrés ambiental y sus efectos negativos en mamíferos marinos

El estrés es un mecanismo de defensa que se activa al momento en que un ser vivo pretende preservar su vida o recuperar la homeostasis frente a cambios inesperados en el ambiente (Schreck, 2000). En los vertebrados, la respuesta primaria ante una situación de estrés y el reconocimiento de una amenaza por parte del sistema nervioso central consiste en la activación de receptores neuronales asociados con la síntesis de cortisol.



En el caso de los mamíferos marinos la exposición crónica a los contaminantes puede prolongar la activación de la respuesta al estrés. En delfines mulares (*Tursiops truncatus*), expuestos a derrames de petróleo, se encontraron hipoadrenocorticismos y enfermedad pulmonar (Schwacke et al., 2014); además de bajo éxito reproductivo y una baja tasa de supervivencia (Lane et al., 2015). En delfines (*Tursiops aduncus*) de Australia, se encontraron altas concentraciones de metalotioneínas y se correlacionaron con daño renal y evidencia de malformaciones óseas (Lavery et al., 2009).

Importancia del estudio de especies invasoras como indicadores de contaminación en ecosistemas acuáticos

En un escenario donde muchas especies se pierden, especialmente por causas antropógenas, otras más proliferan. Hay especies que están adaptándose cada vez más rápido y no necesariamente por causas del acelerado cambio global actual, estas son las especies invasoras, que son aquellas especies que sobreviven, se establecen y reproducen de manera descontrolada fuera de su ambiente natural (Leppäkoski et al., 2013).

Por sus características de poder sobrevivir y reproducirse exitosamente en ambientes distintos al suyo y sobre todo por su éxito de invasión en cortos periodos de tiempo, las especies invasoras pueden ser usadas como una herramienta clave, para entender los mecanismos sobre la adaptación positiva al cambio climático. Las especies invasoras son un indicador de que es posible sobrevivir y adaptarse en ambientes adversos.

En el contexto de la contaminación acuática algunas especies invasoras de peces que habitan estos ecosistemas pueden servir como bioindicadores de la salud de estos hábitats y de las especies con las que comparten el ecosistema, por ejemplo, los mamíferos marinos.



En la presente investigación se incluyeron las especies de peces *Ctenopharyngodon idella* y *Pterygoplichthys spp.*, ya que respondieron de manera similar que los manatíes, en la mortandad inusual de 2018 en Tabasco; además de que los mecanismos de expresión génica están más estudiados y comprendidos en los peces, los resultados generados en estas especies ayudarán a comprender mejor las respuestas de expresión génica en este gran mamífero marino.

Ctenopharyngodon idella

La carpa herbívora, *Ctenopharyngodon idella*, Valenciennes, 1844 (Actinopterygii: Cyprinidae), es un ciprínido originario del río Amur, en el límite entre China y Siberia (Contreras y Escalante, 1984; Gorbach y Krykhtin, 1988). La carpa herbívora en México fue introducida en 1965 y en la selva Lacandona, Chiapas fue registrada por primera vez en 1996 (Rodiles-Hernández et al., 1996).

Características biológicas

C. idella, se distingue por su morfología alargada y una cabeza de forma circular y ancha, con una coloración grisácea en la parte superior. Una característica clave es su aparato masticador especializado: en vez de dientes comunes, posee estructuras en la faringe que le permiten procesar el forraje de manera eficiente (Hutchings, 1998).

Los alevines y juveniles de esta especie son omnívoros y tienen una dieta muy diversa (Cross, 1969). Sus costumbres alimenticias de tipo omnívora se transforman durante su desarrollo, enfocándose más en la ingesta de brotes jóvenes de múltiples especies de algas (Sutton y Vernon, 1986). Los organismos adultos de *C. idella*, para cubrir sus requerimientos alimenticios necesitan ingerir una gran cantidad de plantas, por lo cual consumen diariamente entre el 40 y 70% de su peso corporal (Stott, 1967), por esta razón, son eficaces para regular el crecimiento de ciertos tipos de algas.



***Pterygoplichthys* spp.**

El pez diablo es un bagre que pertenece al orden Siluriformes y a la familia Loricariidae (peces gato con armadura) (Nelson, 2006). Las especies de la familia Locaridade son reguladoras de algas, su dispersión en cuerpos de agua de climas tropicales o templados ha sido impulsada tanto por introducciones intencionadas como por eventos fortuitos (Hoover et al., 2004; Nico et al., 2009). Este bagre es procedente de América del Sur y habitante nativo de la cuenca del Amazonas, su dispersión a nivel global se debe a su popularidad en el comercio de acuarios (Weber, 2003).

El primer reporte de Locaridos en México fue en 1995 en el río Mezcala en el estado de Guerrero (Guzmán y Barragán, 1997). Diversas investigaciones han confirmado la dispersión de esta especie en Tabasco, localizándola en áreas críticas como la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla y la región de la Sierra (Barba, 2005). Otros avistamientos incluyen la Laguna de las Ilusiones (Wakida-Kusunoki et al., 2007; Hernández, 2008), la zona alta de la cuenca del Grijalva (Ramírez-Guevara y Rodiles-Hernández, 2008) y el sistema lagunar de Balancán (Estrada-Loreto, 2008; Cano-Salgado, 2010).

Características biológicas

Esta especie dulceacuícola presenta una notable adaptabilidad a medios con distinta salinidad (Burgués, 1989). Estos bagres todo el día están resguardados en madrigueras de su propia creación. Su éxito reproductivo es elevado debido a las conductas de cuidado parental logrando que una gran parte de sus crías sobrevivan. Una de las características biológicas del género *Pterygoplichthys* spp., es que posee una amplia tolerancia para soportar niveles bajos de oxígeno disuelto (hipoxia), gracias a que cuentan con estómagos agrandados e hipervascularizados que les permiten respirar aire y sobrevivir fuera del agua hasta por 30 horas (Armbruster 1998; da Cruz et al., 2013; Gibbs y Groff 2014). Además, también resisten la mala



calidad del agua encontrándose en aguas contaminadas (Chávez et al., 2006). Es por estos factores que, esta especie es considerada como una amenaza biológica a nivel mundial.

Los hábitos alimenticios de *Pterygoplichthys spp.*, se basan principalmente en el consumo de detritos y los adquiere al raspar detritos orgánicos y restos de plantas superiores e invertebrados acuáticos bentónicos del sedimento (Chaichana et al., 2011; Lujan et al., 2012). Lo anterior favorece la bioacumulación de agentes contaminantes alojados en los sedimentos en los tejidos de estos peces.

Expresión genética mediante PCR cuantitativa (qPCR)

La técnica de PCR cuantitativa para analizar la expresión genética fue desarrollada por Higuchi et al. (1993). La técnica de qPCR se ha empleado ampliamente para estudiar los cambios en la expresión génica, siendo reconocida actualmente como el método más fiable y preciso para su medición. La técnica de qPCR posibilita la cuantificación del ADN en plena ejecución de la reacción gracias a marcadores fluorescentes que se activan al interactuar con el material genético (VanGuilder et al., 2008).

Existen dos alternativas metodológicas para interpretar los datos derivados de una qPCR: la cuantificación de tipo absoluto y la relativa. La cuantificación absoluta, calcula el número de copias totales usando una curva estándar. En la cuantificación relativa se evalúan las variaciones en la expresión de un gen de una muestra específica y se comparan con una muestra control o de referencia. Dicho de otra forma, la expresión relativa se basa en la relación entre la expresión de un gen de interés o diana y la de un gen de referencia en una muestra dada.



Mecanismos metabólicos que inducen la expresión de los genes

El metabolismo de xenobióticos se define como un proceso de biotransformación cuya función es convertir sustancias químicas endógenas y exógenas en metabolitos más solubles en agua y así facilitar su eliminación del organismo (Abou-Donia, 2015; Rendic y Guengerich, 2015; Almazroo et al., 2017; Parkinson et al., 2019). Los xenobióticos son sustancias químicas ajenos a la composición natural de los seres vivos o del medio ambiente (Štefanac et al., 2021; Singh et al., 2023). Los xenobióticos incluyen a diversas sustancias tales como metales pesados, plaguicidas, pesticidas, hidrocarburos aromáticos policíclicos, microplásticos, entre otros (Štefanac et al., 2021; Sobral et al., 2025).

Las vías de biotransformación se dividen en fase I, fase II y fase III (Jancova et al., 2010; Satsu, 2019).

En la fase I, o también llamada de modificación, se altera la estructura química de los xenobióticos lipofílicos mediante reacciones de oxidación, reducción e hidrolisis, produciendo un metabolito polar soluble en agua; a menudo estos xenobióticos activados por las reacciones de fase I continúan siendo activos o tóxicos, por lo tanto, muestran toxicidad al unirse al ADN y a las proteínas intracelulares (Nebert et al., 2000; Talevi y Bellera, 2021; Zhao et al., 2021). En la fase I participan principalmente las enzimas de la familia citocromo P450, entre ellas *CYP1A1* (CYP) (Xu et al., 2005; Satsu, 2019).

En la fase II, también llamada de conjugación, las enzimas desintoxican los metabolitos reactivos producidos durante la fase I, convirtiendo los reactivos en una forma hidrófila e inactiva solubles en agua, lo que permite que el cuerpo los expulse de manera más eficiente, en esta fase participan las GS-T incluidas *GSTP1-1* (Bocedi et al., 2019).



Finalmente, en la fase III los metabolitos producidos en la fase II se excretan fuera de las células por medio del intestino, la bilis o la orina (Talalay, 2000; Xu et al., 2005).

Biomarcadores moleculares

Los biomarcadores moleculares, son usados como indicadores biológicos, ya que, permiten evaluar si un organismo ha estado expuesto a xenobióticos, así como la respuesta y susceptibilidad que estos componentes le ocasionan (Sogorb et al., 2014). Los genes son un ejemplo de biomarcadores, los cuales pueden estar asociados a la detección de estrés medioambiental, como los asociados con las enzimas del Citocromo P450 1A1 (*CYP1A1*), Translocador nuclear del receptor de hidrocarburos de arilo (*ARNT*), Glutathion S- Transferasa *p1* (*GSTP1-1*) y las Metalotioneínas (*MT2*).

Citocromo P450 1A1 (*CYP1A1*)

El sistema enzimático del *Citocromo P450* (*CYP450*) se encarga de eliminar y neutralizar aquellos compuestos químicos que acceden al organismo y no forman parte de la composición habitual de éstos, conocidos como xenobióticos (Rodríguez et al., 2010). Los *CYP450* se utilizan como marcadores moleculares de alta sensibilidad para evaluar perturbaciones ambientales en los organismos. Se ha subrayado por parte de expertos su relevancia específica para el monitoreo toxicológico (García, 2005). En Eucariotas el *CYP450*, se ha detectado en todas las membranas subcelulares destacando la mitocondria y el retículo endoplásmico sus reservorios primordiales (Guengerich, 2007; Ennulat et al., 2010).

El gen *CYP1A* tiene una función clave en la biotransformación de múltiples sustancias endógenas como lípidos, esteroides y vitaminas y también ambientales tóxicos, en particular hidrocarburos aromáticos halogenados (HAHs), hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs, o PAHs por sus siglas en inglés) y bifenilos



policlorados (BPCs) (Goldstone et al., 2007). Entre los tejidos principales que se puede encontrar al *CYP1A1* están el hígado, pulmones, linfocitos, glándulas mamarias, placenta entre otros (Operaña et al., 2007).

El gen *CYP1A1* funciona como un biomarcador centinela (Nambiar et al., 2025), ante la exposición a contaminantes como los HAPs e hidrocarburos aromáticos halogenados (Sergent et al., 2009). La inducción de la expresión del gen *CYP1A1* sirve como biomarcador de toxicidad en especies animales (Mescher y Haarmann-Stemmann, 2018).

Inducción de *CYP1A1* mediada por el receptor de hidrocarburos de arilo (AHR)

Las enzimas de la subfamilia *CYP1A1*, resultan de interés para la toxicología acuática, por su relación con el metabolismo de ciertos contaminantes ambientales persistentes, en diversas especies (Nyman, 2000).

McMillan y Bradfield (2007) definen al receptor de hidrocarburos de arilo (AhR) como un regulador de la transcripción que posee capacidad de unión al ADN. Una vez que el AhR se activa, desencadena la producción de diversas enzimas encargadas de procesar xenobióticos, resaltando especialmente las pertenecientes a la familia *CYP1A* (Slezak et al., 1999; Slim et al., 1999).

Los HAPs lipofílicos, se unen al AhR citosólico (Figura I-3) y después este complejo se une al Translocador Nuclear AhR (*ARNT*). El nuevo complejo se transloca al núcleo y se une al elemento sensible xenobiótico (XRE) en el ADN. Esto desencadena la transcripción de una variedad de genes objetivo, entre ellos los genes *CYP1A*. El ARNm de *CYP1A* se traduce a proteínas en los ribosomas y se transporta al retículo endoplásmico (ER) citosólico. Las enzimas *CYP1A* catabolizan los HAPs a metabolitos, que luego se metabolizan y finalmente se excretan del cuerpo. Los metabolitos formados suelen ser más tóxicos que sus compuestos originales, con consecuencias perjudiciales para la célula (Nebert et al., 2000).

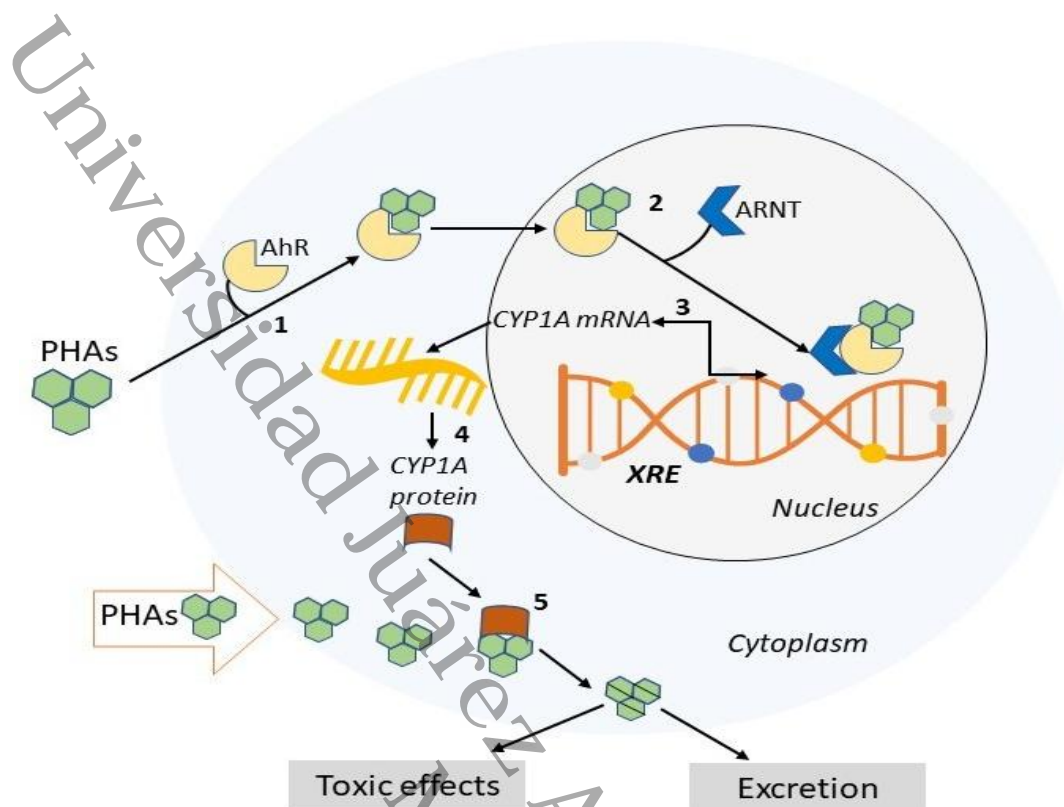


Figura I-3. Modelo clásico para la inducción de *CYP1A*, mediada por el receptor de hidrocarburos de arilo (AhR). Fuente: Nyman, 2000, con modificaciones.

Gen Translocador nuclear del receptor de hidrocarburos de arilo (*ARNT*)

El gen *ARNT* pertenece a la familia de proteínas de regulación transcripcional (Rahman y Thomas, 2012) y recibe también el nombre de “factor inducible por hipoxia” (*HIF-β*) (Bersten et al., 2013; Mandl y Depping, 2014). El gen *ARNT* es requerido para la actividad del gen *AHR* (Receptor de hidrocarburos arilo). A través de la unión al ligando *AHR* se heterodimeriza con *ARNT* e induce la transcripción uniéndose a elementos de respuesta a xenobióticos (Haidar et al., 2021). El gen *ARNT*, promueve la expresión de genes que participan en la biotransformación xenobióticos y está asociado con la ruta metabólica del gen *CYP1A* (Figura I-3) (Ma, 2001; Rahman y Thomas, 2012).



Glutación S-Transferasa

Las enzimas *GS-T* son fundamentales en la biotransformación y desintoxicación de agentes tóxicos celulares. Su inducción en distintas especies actúa como un indicador de exposición a contaminantes ambientales, entre los que destacan los metales pesados (Ahner et al., 2002), los HAPs (Lei et al., 2003), los bifenilos policlorados (Kamohara et al., 1984) y los productos fitosanitarios o plaguicidas (Förlin et al., 1986; Almlí et al., 2002).

Las *Glutation S-Transferasas (GST)* constituyen una familia de enzimas codificadas por cinco familias de genes, *alfa (GSTA)*, *mu (GSTM)*, *theta (GSTT)*, *pi (GSTP)* y *sigma (GSTS)* (García-González et al., 2009).

Los compuestos tóxicos (endógenos, exógenos y medicamentos) intracelulares, de acuerdo con su naturaleza química, son metabolizados por los sistemas enzimáticos de la ruta de desintoxicación de las diferentes fases. El procesamiento de compuestos lipofílicos se lleva a cabo inicialmente a través de la actividad de las enzimas de fase I, como el citocromo P450. Aquellas sustancias con mayor polaridad se biotransforman en reacciones de fase II catalizadas por las enzimas *Glutación S- Transferasas* (Figura I-4). En la fase III, la célula se deshace de los productos finales más solubles en agua y conjugados, utilizando para ello bombas y transportadores integrados en la membrana celular (Bocedi et al., 2019).

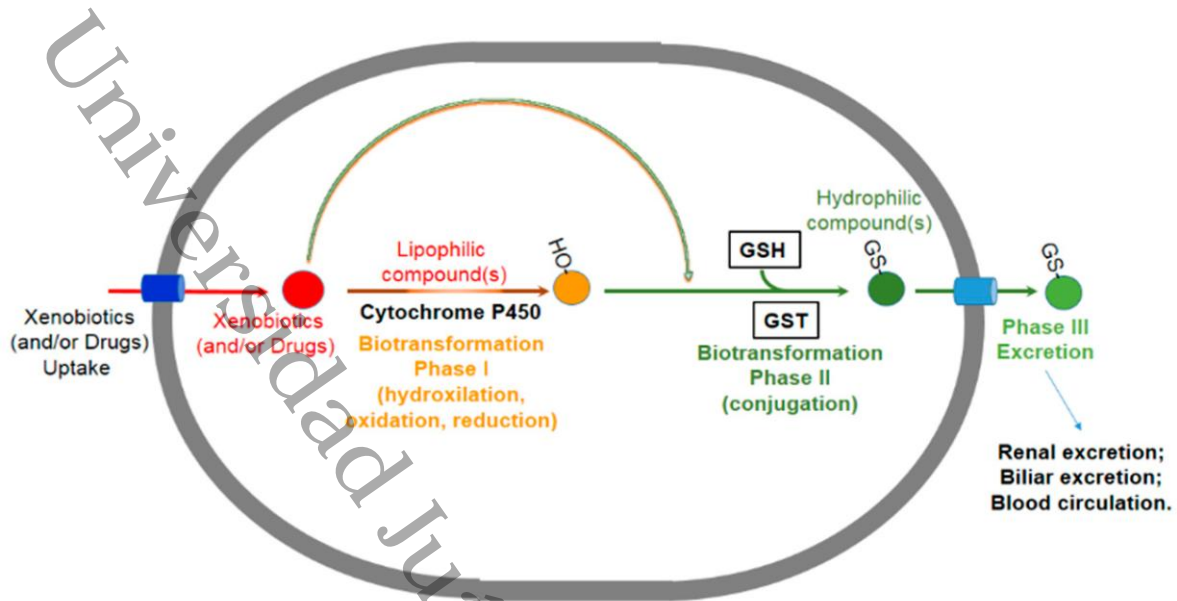


Figura I-4. Vía general de biotransformación de xenobióticos. Función de Glutación S-Transferasa, en la fase II de biotransformación. Fuente: Bocedi et al., 2019.

GSTP1-1

La *GSTP1-1* está presente principalmente en los eritrocitos, cerebro, pulmón y piel (Bocedi et al., 2016). Los glóbulos rojos expresan casi exclusivamente una única isoenzima *GST* (e-*GST*) que ha sido identificada como *GSTP1-1* (Awasthi y Singh, 1984; Awasthi et al., 1994). La *GSTP1-1* se sobreexpresa en eritrocitos humanos ante un incremento de la toxicidad sanguínea (Dessi et al., 2012; Noce et al., 2014). Esta enzima ha sido propuesta como un biomarcador en humanos, que puede señalar una exposición a largo plazo de la contaminación ambiental, se tiene la hipótesis de que puede funcionar de forma similar en otros mamíferos (Noce et al., 2014).

Metalotioneínas (MT)

Las metalotioneínas (*MT*) pertenece a una superfamilia de proteínas ricas en cisteína y metales de baja masa molecular (6–7 kDa), que consisten en una cadena



de 61-68 aminoácidos (Pedersen, et al., 2009). Existen cuatro isoformas principales de Metalotioneninas, *MT-1*, *MT-2*, *MT-3* y *MT-4* y han sido observadas en una gran cantidad de especies, partiendo de las bacterias y llegando hasta los mamíferos (Vasak y Meloni, 2011).

La *MT* cumple diferentes funciones en procesos biológicos tales como: transporte de iones metálicos esenciales (Zinc, Cobre), desintoxicación de iones metálicos (Cadmio, Mercurio), protección contra la toxicidad del metal, eliminación de radicales libres, metabolismo de iones metálicos esenciales regulación de la proliferación celular y la apoptosis, protección contra lesiones neuronales, degeneración y regulación de crecimiento neuronal (Theocharis, et al., 2004).

Estudios anteriores han demostrado que el estrés por metales pesados es un buen inductor de las *MTs* (Świergosz-Kowalewska et al., 2007). Se ha demostrado que la mayoría de los iones tóxicos (como Cadmio, Plomo y Mercurio) poseen una mayor afinidad hacia las moléculas de *MT* (Sabolic et al., 2010). Estos iones metálicos pueden desplazar el zinc u otros iones metálicos de menor afinidad unidos a *MT*, lo que puede provocar alteraciones en procesos celulares cruciales como la transcripción o traducción (McGee et al., 2010).

Metalotioneína 2 (*MT2*)

La isoforma *MT2* junto con *MT1* son las más estudiadas y se expresan en casi todos los tejidos del organismo, predominando en el hígado, riñón, intestino, testículos, pulmón, corazón y cerebro. La síntesis de *MT2* es inducida por cadmio (Cd) y zinc (Zn). El gen *MT2* al igual que el *MT1* se expresan en todas las etapas de desarrollo en casi cualquier tipo de célula y funcionan como reservorio de zinc.



Mecanismos de regulación de la expresión de metalotioneína

La expresión de las metalotioneínas es regulada a nivel transcripcional y puede ser estimulada por variables biológicas, agentes de estrés ambiental y metales de transición (Juárez-Rebollar y Méndez-Armenta, 2014).

Existen varios elementos de respuesta en el promotor del gen de la *MT* encargados de coordinar su actividad transcripcional (Figura I-5). Los elementos de respuesta a metales (MRE) se activan por el factor de transcripción de respuesta a metales 1 (MTF-1), los elementos de respuesta a glucocorticoides (GRE) se activan por el transductor de señales y activador de la transcripción (STAT) quienes a su vez son marcadas por citocinas y los elementos de respuesta a antioxidantes (ARE) que son activados como respuesta al estado redox (Haq et al., 2003; Juárez-Rebollar y Méndez-Armenta, 2014).

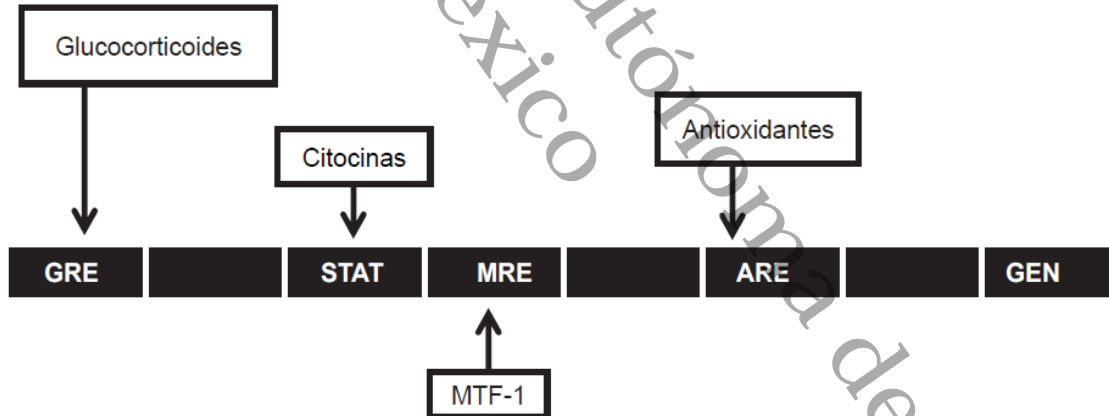


Figura I-5. Posibles mecanismos de regulación de la expresión del gen de metalotioneína. Fuente: Juárez-Rebollar y Méndez-Armenta, 2014.

Mamíferos marinos como modelos genéticos en expresión

Los organismos acuáticos funcionan como modelos experimentales para el estudio de los mecanismos fundamentales del deterioro celular y protección por radicales



libres, desarrollo de daño tisular y consecuencias fisiológicas. Debido a su capacidad para bioacumular sustancias nocivas y procesar compuestos xenobióticos, los peces se emplean habitualmente como indicadores biológicos de genotoxicidad para evaluar la salud de los ecosistemas hídricos (Reis-Henriques et al., 2009).

Los mamíferos marinos pueden ser buenos integradores de los cambios en el espacio y el tiempo y centinelas de la salud del ecosistema. Por ejemplo, el manatí, puede utilizarse como una especie centinela, al ser robustos y una especie de larga vida y es posible evaluar los efectos nocivos de los ecosistemas acuáticos con la ayuda de esta especie (Bonde et al., 2004). Aunque las especies de mamíferos grandes no son consideradas como modelos genéticos para expresión, investigaciones recientes empiezan a realizar este tipo de estudios en algunas de ellas, en la subespecie de manatí de Florida, por ejemplo, se están realizando estudios para detectar biomarcadores moleculares asociados a la marea roja (Ferrante et al., 2018; Lazensky et al., 2020).

Estudios de expresión genética en mamíferos marinos

Estudios de expresión genética en mamíferos marinos se han desarrollado recientemente con la finalidad de evaluar la respuesta molecular de estos organismos, en su mayoría en peligro de extinción, ante los cambios ambientales, principalmente los derivados de la contaminación antrópica.

En orcas (*Orcinus orca*) un estudio de expresión genética se realizó en biopsias de grasa para evaluar de que forma la exposición a bifenilos policlorados (PCB) afecta la salud de estos organismos. Los resultados mostraron aumentos en la expresión de cinco genes diana relacionados con la exposición a PCB, entre los que se incluyeron al receptor de hidrocarburos arílicos (*AhR*) y la metalotioneína 1 (*MT1*). Las alteraciones asociadas a los PCB en la abundancia de ARNm de estos genes clave proporcionan pruebas convincentes de los efectos fisiológicos adversos de los



contaminantes persistentes en estas orcas (Buckman et al. 2011). De forma contraria, en otro estudio, en fibroblastos de orcas (*Orcinus orca*) expuestos a contaminantes persistentes, se observaron bajos niveles de expresión del gen *CYP1A1* relacionados con los efectos antagonistas de los bifenilos policlorados (PCB) (Bjørneset et al. 2023).

En delfines (*Stenella coeruleoalba*), se evaluó la respuesta de los biomarcadores de expresión génica en biopsias de piel, en sitios con distintos niveles de contaminación. Las diferentes respuestas en los niveles de expresión de los genes reflejaron los niveles de contaminación en cada sitio. El sitio con mayor contaminación presentó altos niveles de expresión de los genes *CYP1A* y *AhR* (Panti et al. 2022). Estos resultados indican que el enfoque molecular, constituye un buen instrumento diagnóstico para evaluar el impacto ecotoxicológico en las poblaciones de cetáceos.

En el león marino (*Eumetopias jubatus*), para determinar el impacto de la escasez de alimentos en estos organismos se realizaron estudios de expresión génica sobre estrés nutricional. Los resultados de la expresión diferencial mostraron regulación alta de respuestas proinflamatorias y regulación baja de la respuesta inmune (Spitz et al., 2015).

En la subespecie *Trichechus manatus latirostris* se analizó la expresión génica diferencial de un grupo de manatíes rescatados de una zona afectada por la marea roja. Los resultados mostraron variaciones significativas en la expresión de genes relacionados con la respuesta inmunitaria, los procesos neurodegenerativos y la inflamación; esta investigación proporciona una mejor comprensión de la respuesta inmunitaria de los manatíes a las toxinas de la marea y contribuye al diseño de biomarcadores para el monitoreo ambiental (Lazensky et al., 2020).



Justificación

Existe mucha información sobre los genes implicados en los procesos de desintoxicación en las células modelo, pero no para entender los efectos en diferentes especies y la utilidad de usar genes como biomarcadores para monitorear el riesgo por estrés ambiental, especialmente en grandes especies amenazadas que enfrentan estresores multifactoriales.

A medida que nuevas herramientas moleculares y bioinformáticas, están disponibles para la investigación del genoma, es posible probar ideas en el campo genómico para apoyar en el monitoreo de la salud del ecosistema y comprender los fenómenos involucrados en las contingencias ambientales. Estudiar el estrés ambiental a nivel multitaxa, permitirá probar teorías en escalas generales y mejorar el uso de biomarcadores genómicos y así aportar mejores estrategias para evaluar el riesgo ambiental.

Alimentarse de plantas acuáticas es una característica básica que comparten los manatíes y las dos especies de peces en Tabasco, México, ya sea sujetando epífitas o consumiendo partes o toda la planta, siendo esta la principal vía de introducir tóxicos en los organismos, además del consumo de agua. Como los tóxicos tuvieron el mismo efecto en un gran mamífero y en peces, creemos que el proceso funciona de manera homóloga a nivel multitaxa y podría distorsionar los mecanismos homólogos de expresión génica, brindando la oportunidad de estudiar la generalidad de este proceso. Todavía faltan estudios integradores, pensando en tóxicos químicos o biológicos, para explicar la contingencia ocurrida en Tabasco en 2018 y este estudio contribuirá a ello.



Preguntas de investigación

¿Ciertos genes que codifican proteínas para la eliminación de agentes tóxicos, en manatíes, carpa herbívora y pez diablo, no se expresan cuando se absorben una alta concentración de contaminantes? ¿esto hace que estas especies sean vulnerables a dichos contaminantes?

¿Las poblaciones de la misma especie, tienen una expresión genética diferente frente a la presión ambiental?

Hipótesis

El manatí (*Trichechus manatus manatus*), tiene genes que disminuyen su expresión en respuesta a altos niveles de agentes contaminantes o del estrés ambiental y es posible medir esta expresión.



Objetivos

General:

Estimar los patrones de expresión de los genes *CYP1A*, *ARNT*, *MT2* y *GSTP1-1*, en poblaciones de manatíes en México, y dos especies de peces herbívoros que comparten hábitat, como biomarcadores de estrés ambiental.

Específicos:

1. Estimar los patrones de expresión del gen *CYP1A*, en, *Pterygoplichthys spp.*, en la cuenca de los ríos Grijalva-Usumacinta, en condiciones estacionales secas y húmedas.
2. Estimar los patrones de expresión de los genes *MT-2*, *CYP1A*, *ARNT* y *GSTP1-1*, en poblaciones silvestres de *Trichechus manatus manatus* en la cuenca del río Grijalva y en la Bahía Chetumal en Quintana Roo y con individuos cautivos del Golfo de México.
3. Estimar los patrones de expresión de los genes *MT-2*, *CYP1A* y *ARNT* en *Ctenopharyngodon idella*, en la cuenca de los ríos Grijalva-Usumacinta, en condiciones estacionales secas y húmedas.
4. Comparar los patrones de expresión genética entre manatíes y peces, entre los sitios de estudio, implicaciones para la conservación.



Metodología

Las especies de estudio en esta investigación fueron: *Trichechus manatus manatus*, *Pterygoplichthys spp.* y *Ctenopharyngodon idella*.

Sitios de estudio para los peces y tipo de muestras analizadas

Los mismos sitios fueron evaluados tanto para el bagre como para la carpa herbívora.

Se seleccionaron dos puntos de muestreo en la subcuenca baja del río Grijalva y uno en la cuenca baja del río Usumacinta:

1. Ribera Alta (RA-G) en el municipio de Centla.
2. Río Bitzales (Bit-G), en el municipio de Macuspana
3. la Laguna Chaschoc (CL-U) en el municipio de Emiliano Zapata.

Para ambas especies de peces se recolectaron muestras de hígado, con ayuda de pescadores locales durante el periodo de secas y lluvias. En el capítulo II y IV que corresponde a cada especie se detallan las condiciones metodológicas.

Sitios de estudio para *Trichechus manatus manatus*

El muestreo de los manatíes se realizó en tres áreas:

1. En la subcuenca baja del Río Grijalva (GRB), en Tabasco.
2. En La Bahía Chetumal (ChB) en Quintana Roo.
3. Organismos en cautiverio ubicados en DACBIOL-UJAT en Tabasco, México.

En total se analizaron 21 muestras de sangre, piel e hígado de manatíes en libertad y cautivos en el sur del Golfo de México. En el capítulo III se especifican las condiciones metodológicas.



Extracción de ARN y síntesis de ADN complementario (ADNc)

El ARN total se aisló mediante el método de fenol/cloroformo (Toni et al., 2018). La transcripción inversa del ARN fue realizada con el kit High-Capacity RNA-to-cDNA™ (Applied Biosystem, Foster City, CA, EE. UU.) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Diseño de oligonucleótidos

Para cada especie se diseñaron oligonucleótidos específicos. En general los genes de interés o genes diana analizados en este trabajo fueron *MT2*, *CYP1A1*, *ARNT* y *GSTP1-1*. *GAPDH* y *ACTB* fueron los genes de referencia empleados.

PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR)

La expresión génica se evaluó utilizando el sistema de PCR en tiempo real StepOne™ (Applied Biosystems, Foster, CA, EE. UU.) y el Rotor-Gene Q (QIAGEN, Germantown, MD, EE. UU.). Las reacciones de PCR contenían: ADNc (500 ng), 2X PowerUp SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems, Austin, TX, EE. UU.), 0.2 μM de cada cebador y agua libre de nucleasas (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MD, EE. UU.). El volumen de reacción de PCR fue variable entre las especies de estudio y se especifica en respectivo capítulo. Las condiciones de amplificación fueron 95 °C durante 3 min, seguido de 40 ciclos de 95 °C durante 10 s y 60 °C durante 30 s. Mediante un análisis de disociación (curva de Melt). La especificidad de los productos de qPCR se confirmó y se verificó que no se habían amplificado dímeros de cebadores.

Estabilidad de los genes de referencia

Los genes de referencia *ACTB* y *GAPDH*, fueron usados para normalizar de los datos de expresión génica, utilizando los algoritmos Delta Ct (ΔCt) (Silver et al.,



2006), BestKeeper (Pfaffl et al., 2004), NormFinder (Andersen et al., 2004) y RefFinder (Xie et al., 2012).

Análisis estadístico

Todas las pruebas estadísticas desarrollados en esta tesis se realizaron en R (versión 4.3.3) con el software estándar y el paquete car. el paquete ggplot2 se utilizó para realizar las gráficas. En los capítulos correspondientes se describe cuáles fueron los análisis estadísticos utilizados para cada especie evaluada.

Cronograma de actividades

Actividades	Ago-dic 2019	Ene-Ag 2020	Sep-Dic 2020	Ene-Jul 2021	Ago-di 2021	Oct-dic 2021	Ene-jul 2022	Ago-dic 2022	Ene-jun 2023	Jun-ago 2023
Redacción Anteproyecto y clases presenciales.										
Clases presenciales										
Colecta de muestras										
Extracción de ARN										
Análisis RT-PCR Electroforesis										
Primer artículo científico- avances										
Análisis de RT-PCR- Electroforesis										
Revisión del artículo científico										
Envío de artículo a revista JCR para publicación										
Estancia de investigación										
Análisis de datos de muestras										
Presentación del primer artículo científico en congreso nacional										
Inicio de escritura del segundo artículo científico										
Presentar Examen Toefl										
Revisión del segundo artículo científico										
Examen predoctoral										
Envío del segundo artículo científico a una revista JCR										
Revisión final, con comité sinodal de la tesis										
Tramite de titulación										
Examen de grado										

Referencias citadas

- Abou-Donia, M. B. (2015). *Metabolic biotransformation of xenobiotics*. In Abou-Donia M. B. (Ed.). *Mammalian Toxicology*, (101-129). John Wiley and Sons, Ltd.
- Ahner, B. A., Wei, L., Oleson, J. R., Ogura, N. (2002). Glutathione and other low molecular weight thiols in marine phytoplankton under metal stress. *Marine ecology progress series*, 232, 93-103.
- Almazroo, O. A., Miah, M. K., Venkataramanan, R. (2017). Drug metabolism in the liver. *Clinics in liver disease*, 21(1), 1-20.
- Almli, B., Egaas, E., Christiansen, A., Eklo, O. M., Lode, O., Källqvist, T. (2002). Effects of three fungicides alone and in combination on glutathione S-transferase activity (GST) and cytochrome P-450 (CYP 1A1) in the liver and gill of brown trout (*Salmo trutta*). *Marine Environmental Research*, 54(3-5), 237-240.
- Armbruster, J. W. (1998). Modifications of the digestive tract for holding air in loricariid and scoloplacid catfishes. *Copeia*, 663-675.
- Andersen, C. L., Jensen, J. L., Ørntoft, T. F. (2004). Normalization of real-time quantitative reverse transcription-PCR data: a model-based variance estimation approach to identify genes suited for normalization, applied to bladder and colon cancer data sets. *Cancer research*, 64(15), 5245-5250.
- Arriaga, W.S., Contreras, S.W. (1993). El manatí (*Trichechus manatus*) en Tabasco, (informe técnico; p. 73). Tabasco, México: DacBiol, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Recuperado en https://www.researchgate.net/publication/31643732_El_Manati_trichechus_manatus_en_Tabasco_Stefan_Arriaga_Weiss_Wilfrido_Contreras_Sanchez
- Awasthi, Y. C., Singh, S. V. (1984). Purification and characterization of a new form of glutathione S-transferase from human erythrocytes. *Biochemical and biophysical research communications*, 125(3), 1053-1060.



- Awasthi, Y. C., Sharma, R., Singhal, S. S. (1994). Human glutathione S-transferases. *International Journal of Biochemistry*, 26(3), 295-308.
- Baensch, H.A., Riehl, R. (1985). *Aquarien atlas*. Band 2. Mergus, Verlag für Natur- und Heimtierkunde GmbH, Melle Germany, 1 216 pp.
- Barba, E. (2005). Registro de *Hypostomus* sp. (Linnaeus, 1758) (Pisces: Loricariidae) en la cuenca del Grijalva -Usumacinta, Tabasco. 3er Congreso de la Asociación Mexicana de Limnología A. C. octubre 26-28, 2005, UJAT, Villahermosa, Tabasco, México.
- Bersten, D. C., Sullivan, A. E., Peet, D. J., Whitelaw, M. L. (2013). bHLH-PAS proteins in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 13(12), 827-841.
- Bocedi, A., Fabrini, R., Lai, O., Alfieri, L., Roncoroni, C., Noce, A., ... & Ricci, G. (2016). Erythrocyte glutathione transferase: a general probe for chemical contaminations in mammals. *Cell death discovery*, 2(1), 1-5.
- Bocedi, A., Noce, A., Marrone, G., Noce, G., Cattani, G., Gambardella, G., ...Ricci, G. (2019). Glutathione transferase P1-1 an enzyme useful in biomedicine and as biomarker in clinical practice and in environmental pollution. *Nutrients*, 11(8), 1741.
- Bonde, R.K., Aguirre, AA., Powell, J. (2004). Manatees as sentinels of marine ecosystem health: Are they the 2000-pound canaries? *EcoHealth*, 1, 255–262.
- Bonde, R.K., McGuire, P. M., Hunter, M. E. (2012). A review of the key genetic tools to assist imperiled species conservation: analyzing West Indian manatee populations. *J Mar Anim Their Ecol*, 5, 8-19.
- Bowen, L., Miles, A. K., Ballachey, B., Waters, S., Bodkin, J. (2016). Gene transcript profiling in sea otters post-Exxon Valdez oil spill: A tool for marine ecosystem health assessment. *Journal of Marine Science and Engineering*, 4(2), 39.
- Burgess, W.E. (1989). *An Atlas of Freshwater and Marine Catfishes: A preliminary survey of the Siluriformes*. T. F. H. Publications, Inc. New Jersey. 784 pp.
- Cano-Salgado, M.P. (2010). El plecos (*Pterygoplichthys* spp): su invasión y el abordaje de las cooperativas balcanenses. Tesis doctoral. El Colegio de la Frontera Sur, Villahermosa, Tabasco, 162 pp.



- Chaichana, R., Pouangcharean, S., Yoonphand, R. (2011). Habitat, abundance and diet of invasive suckermouth armored catfish (Loricariidae *Pterygoplichthys*) in the Nong Yai Canal, East Thailand. *Tropical Zoology*, 24(1).
- Chávez, H. M., Casao, E. A., Villanueva, E. P., Paras, M. P., Guinto, M. C., Mosqueda, M. B. (2006). Heavy metal and microbial analyses of janitor fish (*Pterygoplichthys* spp.) in Laguna de Bay, Philippines. *Journal of environmental science and management*, 9(2).
- Contreras, B. S., Escalante, M. A. (1984). Distribution and Known Impacts of Exotic Fishes in México. pp 102-130 En: W. R. Courtenay, Jr. y J. R. Stauffer, Jr. Distribution, Biology, and Management of Exotic Fishes. The Johns Hopkins University Press/ Baltimore.
- Cross, D.G. (1969). Aquatic Weed Control Using Grass Carp. *J. Fish. Biol.*, (1), 2730.
- da Cruz, A. L., Da Silva, H. R., Lundstedt, L. M., Schwantes, A. R., Moraes, G., Klein, W., Fernandes, M. N. (2013). Air-breathing behavior and physiological responses to hypoxia and air exposure in the air-breathing loricariid fish, *Pterygoplichthys anisitsi*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 39, 243-256.
- Dessi, M., Noce, A., Dawood, K. F., Galli, F., Taccone-Gallucci, M., Fabrini, R., Bocedi, A., Massoud, R., Fucci, G., Pastore, A., di Villahermosa, S. M., Zingaretti, V., Federici, G., Ricci, G. (2012). Erythrocyte glutathione transferase: a potential new biomarker in chronic kidney diseases which correlates with plasma homocysteine. *Amino Acids*, 43, 347-354.
- Deutsch, C.J., Morales-Vela, B. (2024). *Trichechus manatus*. Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN 2024: e.T22103A43792740. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2024-2.RLTS.T22103A43792740.en> . Consultado el 3 de mayo de 2026.
- Deutsch, C.J., Valade, J. (2024). *Trichechus manatus* ssp. *latirostris* . Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN 2024: e.T22106A43794045. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2024-2.RLTS.T22106A43794045.en> . Consultado el 3 de mayo de 2026.



- Ennulat, D., Walker, D., Clemo, F., Magid-Slav, M., Ledieu, D., Graham, M., Botts, S., Boone, L. (2010). Effects of hepatic drug-metabolizing enzyme induction on clinical pathology parameters in animals and man. *Toxicol Pathol*, 38, 810-828.
- Estrada-Loreto, F. (2008). Inventario de humedales del municipio de Balancán, Tabasco: biomonitorio de ecosistemas lénticos y lóticos. Tesis de licenciatura en Biología en la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villahermosa Tab. 98 pp.
- Fabrini, R., Bocedi, A., Camerini, S., Fusetti, M., Ottaviani, F., Passali, F. M., ... Ricci, G. (2014). Inactivation of human salivary glutathione transferase P1-1 by hypothiocyanite: a post-translational control system in search of a role. *PLoS One*, 9(11), e112797.
- Ferrante, J.A., Hunter, M.E., Wellehan, J.F. (2018). Development and validation of quantitative PCR assays to measure cytokine transcript levels in the Florida manatee (*Trichechus manatus latirostris*). *J. Wildl. Dis.* 54, 283-294.
- Förlin, L., Haux, C., Karlsson-Norrgren, L., Runn, P., Larsson, Å. (1986). Biotransformation enzyme activities and histopathology in rainbow trout, *Salmo gairdneri*, treated with cadmium. *Aquatic Toxicology*, 8(1),51-64.
- García-González, M. A., Quintero, E., Benito, R., Strunk, M., Nicolás, D., Parra-Blanco, A., ... Espinel, J. (2009). Importancia de los polimorfismos genéticos de las isoformas gstm1, gstt1 y gstp1 de la Glutathion S-Tranferasa en el desarrollo del cáncer gástrico. *Gastroenterología y Hepatología*, 32(3), 233-234.
- Gibbs, M.A., Groff, B.W. (2014). Patterns of aerial respiration by *Pterygoplichthys disjunctivus* (Loricariidae) in Volusia blue spring, Florida. *Florida Scientist*, 53-68.
- Goldstone, J.V., Goldstone, H.M.H., Morrison, A.M., Tarrant, A., Kern, S.E., et al. (2007). Cytochrome P450 genes in early deuterostomes (tunicates and sea urchins) and vertebrates (chicken and frog): origin and diversification of the CYP1 gene family. *Mol Biol Evol*, 24, 2619–2631.



- Gómez-Carrasco, G., Leshner-Gordillo, JM., Olivera-Gómez, LD., Bonde, RK., Arriaga-Weiss, S., Hernández-Martínez, R., ... y Delgado-Estrella, A. (2018). Genetic Diversity and Structure From Antillean Manatee (*Trichechus manatus manatus*) in the Southern Gulf of México: Comparison Between Connected and Isolated Populations. *Tropical Conservation Science*, 11, 1940082918795560.
- Gorbach, E. I. Kryhtin, M. L. (1988). Migration of the White Amur, *Ctenopharyngodon idella* and Silver Carp *Hypophthalmichthys molitrix*, in the Amur River Basin. *Voprosy Ikhtiologii*, 4, 619-625.
- Guengerich, F.P. (2007). Cytochrome p450 and chemical toxicology. *Chemical research in toxicology*, 21(1), 70-83.
- Gulland, F. M., Dierauf, L. A. Whitman, K. L. (Eds.). (2018). CRC Handbook of Marine Mammal Medicine. CRC Press. 1124 p.
- Guzmán, A.F., Barragán, S.J. (1997). Presencia de bagres sudamericanos (Osteichthyes:Loricariidae) en el río Mezcala, Guerrero, México. *Vertebrata mexicana*, 3, 1-4.
- Haidar, R., Henkler, F., Kugler, J., Rosin, A., Genkinger, D., Laux, P., Luch, A. (2021). The role of DNA-binding and ARNT dimerization on the nucleocytoplasmic translocation of the aryl hydrocarbon receptor. *Scientific reports*, 11(1), 18194.
- Haq, F., Mahoney, M., Koropatnick, J. (2003). Signaling events for metallothionein induction. *Mutat Res*, 533(1-2), 211-226.
- Hartman, D.S. (1979). Ecology and behavior of the manatee ("*Trichechus manatus*") in Florida. Ithaka, New York. Special publications (*The American Society Mammalogist*). Doi: <http://dx.doi.org/10.5962/bhl.title.39474>
- Hernández, M.E. (2008). Aspectos reproductivos del Loricarido *Pterygoplichtys pardalis* (Castelnau, 1855) en Laguna de las Ilusiones, Tabasco, México. Tesis de licenciatura en biología, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villahermosa, México, 64 pp.



- Higuchi, R., Fockler, C., Dollinger, G., Watson, R. (1993). Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology*, 11(9), 1026-1030.
- Hoover, J.J., Killgore, K.J., Cofrancesco, A.F. (2004). Suckermouth catfishes: threats to aquatic ecosystems of the United States? Aquatic Nuisance Species Research Program. Engineers Research and Development Center, Vicksburg, MS. *ANSRP Bulletin*, 4 (1), 1-13.
- Hutchings, E. (1998). Biological Weed Control in Alberta Using Triploid Grass Carp. Alberta. Canada. <http://www.agric.gov.ab.ca/research/ari/matching/94-95/94m624.html>.
- Jancova, P., Anzenbacher, P., Anzenbacherova, E. (2010). Phase II drug metabolizing enzymes. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 154(2), 103-116.
- Juárez-Rebollar, D., Méndez-Armenta, M. (2014). Aspectos funcionales de la metalotioneína en el sistema nervioso central. *Archivos de Neurociencias*, 19(1), 34-41.
- Kamohara, K., Yagi, N., y Itokawa, Y. (1984). Mechanism of lipid peroxidation in polychlorinated biphenyl PCB and dichlorodiphenyltrichloroethane DDT-poisoned rats. *Environmental Research*, 32(4), 18-23.
- Ladrón de Guevara Porras, P., Morales-Vela, B., Olivera-Gómez, L.D. (2019). El manatí, una especie bajo amenaza de extinción. *Ciencia*, 70(3), 38-47.
- Lane, S. M., Smith, C. R., Mitchell, J., Balmer, B. C., Barry, K. P., McDonald, T., ... Schwacke, L. H. (2015). Reproductive outcome and survival of common bottlenose dolphins sampled in Barataria Bay, Louisiana, USA, following the Deepwater Horizon oil spill. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1818), 20151944.
- Lavery, T. J., Kemper, C. M., Sanderson, K., Schultz, C. G., Coyle, P., Mitchell, J. G., Seuront, L. (2009). Heavy metal toxicity of kidney and bone tissues in South Australian adult bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*). *Marine Environmental Research*, 67(1), 1-7.



- Lazensky, R, et al. Investigating the gene expression profiles of rehabilitated Florida manatees (*Trichechus manatus latirostris*) following red tide exposure. *Plos one*, 15, e0234150 (2020).
- Lei, A. P., Wong, Y. S., Tam, N. F. Y. (2003). Pyrene-induced changes of glutathione-S-transferase activities in different microalgal species. *Chemosphere*, 50(3), 293-301.
- Leppäkoski, E., Gollasch, S., Olenin, S. (Eds.). (2013). Invasive aquatic species of Europe. Distribution, impacts and management. *Springer Science and Business Media*.
- Lujan, N. K., Winemiller, K. O., Armbruster, J. W. (2012). Trophic diversity in the evolution and community assembly of loricariid catfishes. *BMC Evolutionary Biology*, 12, 1-13.
- Lushchak, V. I. (2011). Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic toxicology*, 101(1), 13-30.
- Ma, Q. (2001). Induction of CYP1A1. The AhR/DRE paradigm transcription, receptor regulation, and expanding biological roles. *Current drug metabolism*, 2(2), 149-164.
- Mandl, M., Depping, R. (2014). Hypoxia-inducible aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT)(HIF-1 β): is it a rare exception?. *Molecular Medicine*, 20, 215-220.
- McMillan, B., Bradfield, C. (2007). The aryl hydrocarbon receptor sans xenobiotics: endogenous function in genetic model systems. *Molecular pharmacology*, 72(3), 487-498.
- Marshall, CD., Huth, GD., Edmonds, VM., Halin, DL., Reep, RL. (2000). Food-handling ability and feeding-cycle length of manatees feeding on several species of aquatic plants. *Journal of Mammalogy*, 81, 649-658.
- Marsh, H., O'Shea, T.J., Reynolds, J. E. (2011). Ecology and conservation of the Sirenia: dugongs and manatees. Cambridge University Press.
- Marsh, H., Lefebvre, LW. (1994). Sirenian status and conservation efforts. *Aquatic Mammal*, 20, 155-170.



- McGee, H. M., Woods, G. M., Bennett, B., Chung, R. S. (2010). The two faces of metallothionein in carcinogenesis: photoprotection against UVR-induced cancer and promotion of tumour survival. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 9(4), 586-596.
- Mescher, M., Haarmann-Stemmann, T. (2018). Modulation of CYP1A1 metabolism: From adverse health effects to chemoprevention and therapeutic options. *Pharmacology and therapeutics*, 187, 71-87.
- Mignucci-Giannoni, A.A., Montoya-Ospina, R.A., Jimenez-Marrero, N.M., Rodríguez-López, M.A., Williams, E.H., Bonde, R.K. (2000). Manatee mortality in Puerto Rico. *Environmental Management*, 25 (2), 189-198.
- Mignucci-Giannoni, A.A., González-Socoloske, D., Álvarez-Alemán, A., Aquino, J., Caicedo-Herrera, D., Castelblanco-Martínez, D.M., Claridge, D., Corona-Figueroa, M.F., Debrot, A.O., de Thoisy, B., Espinoza-Marín, C., Galves, J.A., García-Alfonso, E., Guzmán, H., Khan, J.A., Kiszka, J.J., Luna, F.O., Marmontel, M., Olivera-Gómez, L.D., O'Sullivan, C., Powell, J.A., Pugibet-Bobea, E., Roopsind, I. and Silva, C.J. (2024). What's in a name? Standardization of vernacular names for *Trichechus manatus*. *Caribbean Naturalist*, 98, 1-17.
- Morales-Vela B., Padilla-Saldivar, JA., Mignucci-Giannoni, AA. (2003). Status of the manatee (*Trichechus manatus*) along the northern and western coasts of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Caribbean Journal of Science*, 39 (1), 42-49.
- Morales-Vela, B., Olivera-Gómez, L. D., Jiménez-Domínguez, D. (2018). Unusual mortality event for manatees in the Southern Gulf of Mexico. *Sirenews, Newsletter of the IUCN/SSC Sirenia Specialist Group*, (68), 11-13.
- Morales-Vela, B., Bahena-Basave, H. (2023). Los Manatíes de la Costa Maya. Chetumal, México. El Colegio de la Frontera Sur.
- Morales-Vela, B., Quintana-Rizzo, E., Mignucci-Giannoni, A. (2024). *Trichechus manatus ssp. manatus*. The IUCN Red List of Threatened Species <https://www.iucnredlist.org/es/species/22103/43792740>



- Nambiar, S.P., Pillai, D., Nair, S.N., Krishnan, R. (2025). Ecotoxicological significance of cytochrome P450 in fish encompassing xenobiotic detoxification and physiological regulation. *Discover Biotechnology*, 2(1), 38.
- Nelson, J. (2006). *Fishes of the world*. John Wiley and Sons. Nueva York, EUA. 601 p.
- Nebert, DW., Roe, AL., Dieter, MZ., Solis, WA., Yang, Y., Dalton, TP. (2000). Role of aromatic hydrocarbon receptor (AhR) and gene battery in oxidative stress response, cell cycle control and apoptosis. *Biochem. Pharmacol.*, 59, 65–85.
- Nico, L.G., Fuller, P.L. (1999). Spatial and temporal patterns of nonindigenous fish introductions in the United States. *Fisheries*, 24 (1), 16-27.
- Noce, A., Fabrini, R., Dessì, M., Bocedi, A., Santini, S., Rovella, V., Pastore, A., Tesauro, M., Bernardini, S., Daniele, N. D., Ricci, G. (2014). Erythrocyte glutathione transferase activity: A possible early biomarker for blood toxicity in uremic diabetic patients. *Acta Diabetol*, 51, 219-224.
- Nyman, M. (2000). *Biomarkers for exposure and for the effects of contamination with polyhalogenated aromatic hydrocarbons in Baltic ringed and grey seals*. University of Helsinki, Finland.
- Nourisson, C., Morales-Vela, B., Padilla-Saldivar, J., Pause-Tucker, K., Clark, AM., Olivera-Gómez, L.D., Bonde, R., McGuire, P. (2011). Evidence of two genetic clusters of manatees with low genetic diversity in Mexico and implications for their conservation. *Genética*, 139, 833–842.
- Olivera-Gómez, L.D, Domínguez-Jiménez, D. (2019). *Diversidad de Especies: El manatí en los sistemas fluvio-lagunares*, En: Cruz-Angón, A., Cruz-Medina, J., Valero-Padilla, J., Rodríguez-Reynaga, F.P., Melgarejo, E.D., Mata-Zayas, E.E., Palma-López, D.J. (Coords). *La Biodiversidad en Tabasco, Estudio de estado*. CONABIO, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Colegio de Posgraduados campus Tabasco, México. pp: 350-356.
- Olivera-Gómez, L.D., Jiménez-Domínguez, D., Morales-Vela, B., Herrera, J.L.G. (2022). Distribución espacial del manatí en la planicie costera del sur del Golfo de México. *ERA*, 9, 25.



- Operaña, T., Nguyen, N., Chen, S., Beaton, D., y Tukey, R. (2007). Human CYP1A1 expression in transgenic mice serves as a biomarker for environmental toxicant exposure. *Toxicological Sciences*, 95, 98-107.
- Parkinson, A.; Ogilvie, B. W.; Buckley, D. B.; Kazmi, F.; Parkinson, O. (2019). Chapter 6. Biotransformation of xenobiotics. in Klaassen C.D. (Ed.). *Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons*, 193-430. The McGraw-Hill.
- Pedersen, MO., Larsen, A., Stoltenberg, M., Penkowa, M. (2009). The role of metallothionein in oncogenesis and cancer prognosis. *Prog Histochem Cytochem*, 44(1), 29–64.
- Pfaffl, M. W., Tichopad, A., Prgomet, C., Neuvians, T. P. (2004). Determination of stable housekeeping genes, differentially regulated target genes and sample integrity: BestKeeper–Excel-based tool using pair-wise correlations. *Biotechnology letters*, 26(6), 509-515.
- Rahman, M.S., Thomas, P. (2012). Effects of hypoxia exposure on hepatic cytochrome P450 1A (CYP1A) expression in Atlantic croaker: molecular mechanisms of CYP1A down-regulation. *PLoS one*, 7(7), e40825.
- Ramírez-Guevara, N.N., Rodiles-Hernández, R. (2008). Invasión de bagres armados (Siluriformes: Loricariidae) en la Cuenca del Grijalva-Usumacinta, Chiapas. XII Congreso de la Sociedad Mesoamericana para la Biología y la Conservación. San Salvador, El Salvador, 12 de noviembre de 2008.
- Rathbun, G.B., Reid, J.P., Bonde, R., Powel, J.A. (1995). Reproduction in free-ranging Florida manatees. In: O'Shea T, Ackerman BB, Percival F (eds) Population biology of the Florida manatee. *National Biological Service Information and Technology Report 1*, pp 135-156.
- Reep, R. L., Bonde, R. K. (2006). The Florida Manatee: Biology and Conservation. University Press of Florida.
- Rendic, S., Guengerich, F. P. (2015). Survey of human oxidoreductases and cytochrome P450 enzymes involved in the metabolism of xenobiotic and natural chemicals. *Chemical Research in Toxicology*, 28(1), 38-42.
- Reynolds, J.E., Odell, D.K. (1991). Manatees and Dugongs. Facts on File, NY.



- Rodas-Trejo, J., Romero-Berny, E. I., y Estrada, A. (2008). Distribution and conservation of the West Indian manatee (*Trichechus manatus manatus*) in the Catazajá wetlands of northeast Chiapas, México. *Tropical Conservation Science*, 1(4), 321-333.
- Rodiles-Hernández H. R., S. Domínguez, C. y E. Velázquez V., 1996. Diversidad Íctica del Río Lacanjá, Selva Lacandona, Chiapas, México. *Zoología Informa*, (34), 3-18.
- Sabolic, I., Breljak, D., Skarica, M., Herak-Kramberger, CM. (2010). Role of metallothionein in cadmium traffic and toxicity in kidneys and other mammalian organs. *Biometals*, 23 (5), 897–926.
- Satsu, H. (2019). Regulation of detoxification enzymes by food components in intestinal epithelial cells. *Food Science and Technology Research*, 25(2), 149-156.
- Schreck, C. B. (2000). Accumulation and long-term effects of stress in fish. in: Moberg, G., Mench, J. (Eds.). *The biology of animal stress*, 1, 147-158.
- Schwacke, L.H., Smith, C. R., Townsend, F. J., Wells, R. S., Hart, L. B., Balmer, B. C., ... Rowles, T. K. (2014). Health of common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in Barataria Bay, Louisiana, following the Deepwater Horizon oil spill. *Environmental science and technology*, 48(1), 93-103.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Naturales Ambiente y Recursos). (2010). *Norma Oficial Mexicana 059, Protección ambiental Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo* Retrieved from http://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/435/1/NOM_059_SEMARNAT_2010.pdf
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA). (2018). Reporte final: Atención de contingencia de manatíes en Tabasco. Actualizado al 5 de noviembre de 2018. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/410558/Reporte_mortanda_d_de_manaties_act__05_nov_18.pdf



- SEMARNAT. (2020). Programa de Acción para la Conservación de la Especie Manatí de las Antillas (*Trichechus manatus manatus*).
- Sergent, T., Dupont, I., Jassogne, C., Ribonnet, L., Van Der Heiden, E., Scippo, M. L., ... Schneider, Y. J. (2009). CYP1A1 induction and CYP3A4 inhibition by the fungicide imazalil in the human intestinal Caco-2 cells—Comparison with other conazole pesticides. *Toxicology letters*, 184(3), 159-168.
- Silver, N., Best, S., Jiang, J., Thein, S. L. (2006). Selection of housekeeping genes for gene expression studies in human reticulocytes using real-time PCR. *BMC molecular biology*, 7(1), 33.
- Singh, M., Mishra, R. C., Shah, I., Wadhwa, V., Mor, V. (2023). *Xenobiotics: sources, pathways, degradation, and risk associated with major emphasis on pharmaceutical compounds*. In *Xenobiotics in urban ecosystems: sources, distribution and health impacts* (pp. 87-106). Cham: Springer International Publishing.
- Slezak, BP., Diliberto, JJ., Birnbaum, LS. (1999). 2,3,7,8- Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin-mediated oxidative stress in CYP1A2 knockout (CYP1A2^{-/-}) mice. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 264, 376–379.
- Slim, R., Toborek, M., Robertson, LW., Hennig, B. (1999). Antioxidant protection against PCB-mediated endothelial cell activation. *Toxicol. Sci.*, 52, 232–239.
- Sobral, A. F., Cunha, A., Costa, I., Silva-Carvalho, M., Silva, R., Barbosa, D. J. (2025). Environmental Xenobiotics and Epigenetic Modifications: Implications for Human Health and Disease. *Journal of Xenobiotics*, 15(4), 118. <https://doi.org/10.3390/jox15040118>
- Sogorb, MA., Estevez, J., y Vilanova, E. (2014). *Biomarkers in biomonitoring of xenobiotics*. *Biomarkers in Toxicology*, 965-973. doi:10.1016 / b978-0-12-404630-6.00057-9.
- Spitz, J., Becquet, V., Rosen, D. A., Trites, A. W. (2015). A nutrigenomic approach to detect nutritional stress from gene expression in blood samples drawn from Steller sea lions. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 187, 214-223.



- Štefanac, T., Grgas, D., Landeka Dragičević, T. (2021). Xenobiotics—division and methods of detection: a review. *J Xenobiot*, 11 (4), 130–141.
- Stott, B. (1967). Aquatic Weed Control by Grass Carp in Arkansas. *Program Fish Cult.*, 28, 23 – 30.
- Sutton, D., Vernon, V. Jr. (1986). Grass carp, A fish for biological management of hydrilla and other aquatic weeds in Florida. Florida agricultural.
- Świergosz-Kowalewska, R., Bednarska, A., Callaghan, A. (2007). Expression of metallothionein genes I and II in bank vole *Clethrionomys glareolus* populations chronically exposed in situ to heavy metals. *Environmental science and technology*, 41(3), 1032-1037.
- Talalay, P. (2000). Chemoprotection against cancer by induction of phase 2 enzymes. *Biofactors*, 12, 5-11.
- Talevi, A., Bellera, C.L. (2021). Drug metabolism functionalization (phase I) reactions. In *The ADME Encyclopedia: A Comprehensive Guide on Biopharmacy and Pharmacokinetics* (pp. 387-394). Cham: Springer International Publishing.
- Theocharis, SE., Margeli, AP., Klijanienko, JT., Kouraklis, GP. (2004). Metallothionein expression in human neoplasia. *Histopathology*, 45,103–118.
- Toni, L. S., Garcia, A. M., Jeffrey, D. A., Jiang, X., Stauffer, B. L., Miyamoto, S. D., Sucharov, C. C. (2018). Optimization of phenol-chloroform RNA extraction. *MethodsX*, 5, 599-608.
- Trego, M. L., Whitehead, A., Kellar, N. M., Lauf, M., & Lewison, R. L. (2019). Tracking transcriptomic responses to endogenous and exogenous variation in cetaceans in the Southern California Bight. *Conservation Physiology*, 7(1), coz018.
- Vasak, M., Meloni, G. (2011). Chemistry and biology of mammalian metallothioneins. *J Biol Inorg Chem*, 16(7), 1067–1078.
- Vandersteen Tymchuk, W., O'Reilly, P., Bittman, J., Macdonald, D., Schulte, P. (2010). Conservation genomics of Atlantic salmon: variation in gene expression between and within regions of the Bay of Fundy. *Molecular Ecology*, 19(9), 1842-59.



- VanGuilder, H.D., Vrana, K.E., Freeman, W.M. (2008). Twenty-five years of quantitative PCR for gene expression analysis. *Biotechniques*, 44(5), 619-626.
- Wakida-Kusunoki, A. T., Ruiz-Carus, R. Amador- del Ángel, E. L. (2007). Amazon sailfin catfish, *Pterygoplichthys pardalis* (Casternau, 1855) (Loricariidae), species established in southeastern Mexico. *The Southwestern Naturalist*, 52(1), 141-144.
- Weber, C. (2003). Subfamily hypostominae. Check list of the freshwater fishes of South and Central America. *Porto Alegre, Edipucrs*, 729p, 351-372.
- Xie, F., Xiao, P., Chen, D., Xu, L., Zhang, B. (2012). miRDeepFinder: a miRNA analysis tool for deep sequencing of plant small RNAs. *Plant molecular biology*, 80(1), 75-84.
- Xu, C., Li, C. Y. T., Kong, A. N. T. (2005). Induction of phase I, II and III drug metabolism/transport by xenobiotics. *Archives of pharmacal research*, 28, 249-268.
- Zhao, M., Ma, J., Li, M., Zhang, Y., Jiang, B., Zhao, X., Huai, C., Shen, L., Zhang, N., He, L., Qin, S. (2021). Cytochrome P450 enzymes and drug metabolism in humans. *International journal of molecular sciences*, 22(23), 12808.



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

CAPITULO II.

ESTRÉS AMBIENTAL EN EL BAGRE ACORAZADO SILVESTRE *Pterygoplichthys* spp. MEDIANTE LA EXPRESIÓN DEL GEN CYP1A



Nombre del artículo: Estrés ambiental en el bagre acorazado silvestre *Pterygoplichthys* spp. mediante la expresión del gen *CYP1A*

Autores: Guadalupe Gómez-Carrasco ^{1,*}, Julia María Leshner-Gordillo ^{1,*}, León David Olivera-Gómez ¹, Erick de la Cruz-Hernández ², Benjamín Morales-Vela ³, Gilberto Pozo-Montuy ⁴, Salima Machkour-M'Rabet ⁵, Hilda María Díaz-López ¹

Resumen: Los ecosistemas acuáticos se enfrentan actualmente a la contaminación antropogénica, derivada principalmente de la escorrentía agrícola, industrial y urbana, incluyendo metales pesados, hidrocarburos aromáticos policíclicos (PHAs), pesticidas, fertilizantes y descargas de aguas residuales sin tratar. Para comprender los efectos de los contaminantes ambientales en los peces, esta investigación comparó la expresión del gen citocromo P450 1A (*CYP1A*) en el bagre acorazado en tres localidades de la cuenca baja del río Grijalva-Usumacinta conocida por diferentes niveles de contaminación. Se recolectaron muestras de Ribera Alta, el río Bitzales y la Laguna Chaschoc durante las estaciones seca y lluviosa. Aislamos ARN de muestras de hígado, que posteriormente se convirtieron a ADNc. Se utilizó PCR cuantitativa para analizar la expresión del gen *CYP1A*. Los resultados mostraron que, de las tres localidades, Ribera Alta demostró la mayor expresión durante la temporada de lluvias. Solo en la Laguna Chaschoc observamos diferencias significativas entre estaciones ($p= 0.03$). Esto indica que los factores estacionales y la presencia de contaminantes en los cuerpos de agua y sedimentos probablemente juegan un papel en la regulación de la expresión del gen *CYP1A* en esta especie de pez.

Palabras clave: hidrocarburos aromáticos policíclicos; contaminación; desintoxicación; hígado; PCR cuantitativa; cuenca Grijalva-Usumacinta.

Institución de adscripción de cada autor: ¹Centro de Investigación para la Conservación y el Aprovechamiento de los Recursos Tropicales (CICART), División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carretera Villahermosa-Cárdenas Km. 0.5 S/N, Ranchería Emiliano Zapata, 86150 Villahermosa, Tabasco, México. ²Laboratorio de Investigación en Enfermedades Metabólicas e Infecciosas, División Académica Multidisciplinaria de Comalcalco, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Ranchería Sur Cuarta Sección, Comalcalco City, Tabasco 86650, México ³El colegio de la Frontera Sur, Avenida del Centenario km 5.5, 77014 Chetumal, Quintana Roo, México Benjamín Morales-Vela. ⁴Conservación de la Biodiversidad del Usumacinta A.C. Carretera Balancán- Tulipan km 12, Ranchería Leona Vicario, Balancán, 86936, Tabasco, México. ⁵Departamento de Conservación de la Biodiversidad, El colegio de la Frontera Sur, Avenida del Centenario km 5.5, 77014 Chetumal, Quintana Roo, México. *Autores a quienes debe dirigirse la correspondencia.

Artículo publicado en: *Ecologies*. <https://doi.org/10.3390/ecologies7010001>

Nombre de la editorial: Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

Fecha de publicación: diciembre de 2025.



Estrés ambiental en el bagre acorazado silvestre *Pterygoplichthys* spp. mediante la expresión del gen *CYP1A*

Guadalupe Gómez-Carrasco ^{1,*}, Julia María Leshner-Gordillo ^{1,*}, León David Olivera-Gómez ¹, Erick de la Cruz-Hernández ², Benjamín Morales-Vela ³, Gilberto Pozo-Montuy ⁴, Salima Machkour-M'Rabet ⁵, Hilda María Díaz-López ¹

¹Centro de Investigación para la Conservación y el Aprovechamiento de los Recursos Tropicales (CICART), División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carretera Villahermosa-Cárdenas Km. 0.5 S/N, Ranchería Emiliano Zapata, 86150 Villahermosa, Tabasco, México

²Laboratorio de Investigación en Enfermedades Metabólicas e Infecciosas, División Académica Multidisciplinaria de Comalcalco, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Ranchería Sur Cuarta Sección, Comalcalco City, Tabasco 86650, México

³El colegio de la Frontera Sur, Avenida del Centenario km 5.5, 77014 Chetumal, Quintana Roo, México Benjamín Morales-Vela

⁴Conservación de la Biodiversidad del Usumacinta A.C. Carretera Balancán- Tulipan km 12, Ranchería Leona Vicario, Balancán, 86936, Tabasco, México

⁵Departamento de Conservación de la Biodiversidad, El colegio de la Frontera Sur, Avenida del Centenario km 5.5, 77014 Chetumal, Quintana Roo, México. *Autores a quienes debe dirigirse la correspondencia.

Resumen

Los ecosistemas acuáticos se enfrentan actualmente a la contaminación antropogénica, derivada principalmente de la escorrentía agrícola, industrial y urbana, incluyendo metales pesados, hidrocarburos aromáticos policíclicos (PHAs), pesticidas, fertilizantes y descargas de aguas residuales sin tratar. Para comprender los efectos de los contaminantes ambientales en los peces, esta investigación comparó la expresión del gen citocromo P450 1A (*CYP1A*) en el bagre acorazado en tres localidades de la cuenca baja del río Grijalva-Usumacinta conocida por diferentes niveles de contaminación. Se recolectaron muestras de Ribera Alta, el río Bitzales y la Laguna Chaschoc durante las estaciones seca y lluviosa. Aislamos ARN de muestras de hígado, que posteriormente se convirtieron a ADNc. Se utilizó PCR cuantitativa para analizar la expresión del gen *CYP1A*. Los resultados mostraron que, de las tres localidades, Ribera Alta demostró la mayor expresión



durante la temporada de lluvias. Solo en la Laguna Chaschoc observamos diferencias significativas entre estaciones ($p= 0.03$). Esto indica que los factores estacionales y la presencia de contaminantes en los cuerpos de agua y sedimentos probablemente juegan un papel en la regulación de la expresión del gen *CYP1A* en esta especie de pez.

Palabras clave: hidrocarburos aromáticos policíclicos; contaminación; desintoxicación; hígado; PCR cuantitativa; cuenca Grijalva-Usumacinta.

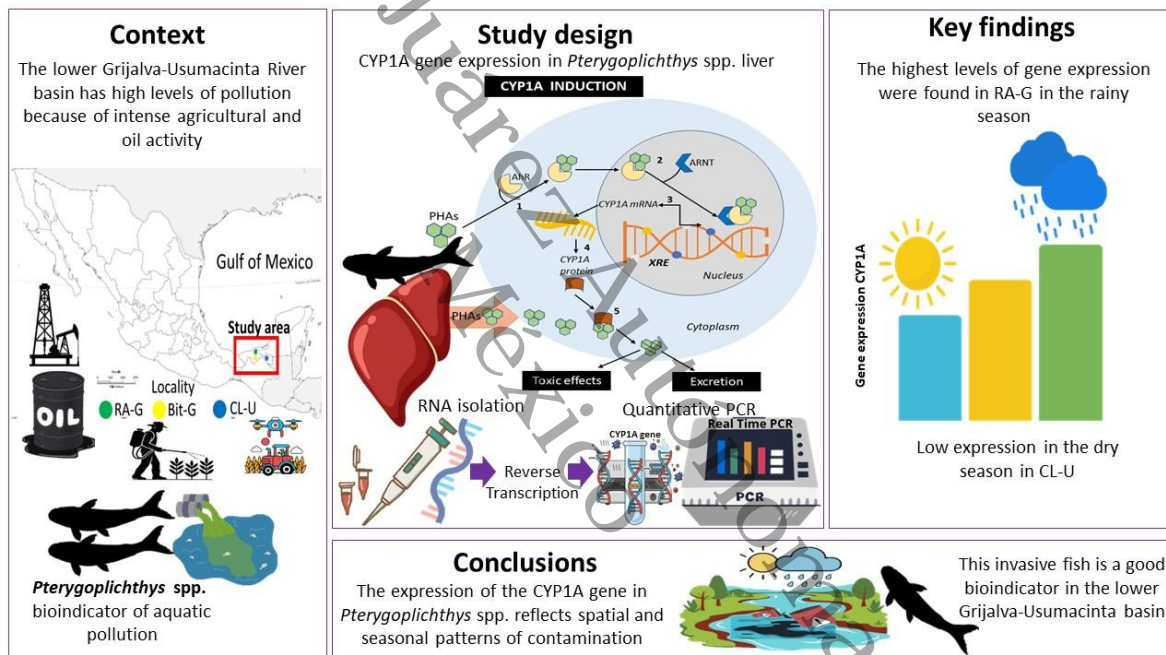


Figura II-1. Resumen gráfico.

Introducción

Los ecosistemas acuáticos se enfrentan actualmente a una importante amenaza derivada de la contaminación antropogénica, cuyas principales fuentes son las escorrentías agrícolas, industriales y urbanas. Estas incluyen metales pesados, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), pesticidas, fertilizantes y vertidos de aguas residuales sin tratar [1,2]. Se ha demostrado que la liberación de



contaminantes al agua ejerce un efecto tóxico directo sobre la biota. En ciertas especies de peces, los contaminantes derivados de los HAPs han provocado un aumento de la susceptibilidad a enfermedades, una disminución de las tasas de supervivencia y alteraciones histopatológicas [3,4].

Los HAPs (hidrocarburos aromáticos policíclicos) son contaminantes que se caracterizan por tener una estructura con dos o más anillos de benceno y su larga persistencia en el medio ambiente [5,6]. Estos productos químicos, que se encuentran en el agua, el aire o el suelo [7], son potencialmente tóxicos y hay evidencia que sugiere que son cancerígenos y mutagénicos [8]. Las principales fuentes de contaminación por HAPs en los ecosistemas acuáticos son pirogénicas (generadas por un proceso de combustión incompleto) y petrogénicas (derivadas de combustibles) [9]; los derrames de petróleo en cuerpos de agua se consideran las formas más alarmantes de contaminación y exposición a HAPs [10].

Las vías principales a través de las cuales ocurre la bioacumulación de contaminantes en organismos acuáticos son los tejidos del hígado, riñones, branquias y huesos [11,12]. Sin embargo, la investigación indica que los HAPs y los metales pesados se bioacumulan predominantemente en el hígado [13,14]. El hígado tiene un rol clave en la biotransformación y desintoxicación de xenobióticos [15,16]. En peces, es el órgano diana para la bioacumulación de HAPs [17,18]. Las enzimas del sistema monooxigenasa del citocromo P450 (*CYP450*) están involucradas en el metabolismo de muchos xenobióticos [19] y también constituyen biomarcadores confiables para evaluar los impactos toxicológicos inducidos por contaminantes acuáticos en organismos expuestos [20,21]. En particular, el citocromo P4501A (*CYP1A*) es altamente sensible a los contaminantes debido a su importante papel en el metabolismo de toxinas, una característica esencial para evaluar la calidad de los entornos contaminados [22,23]. La familia *CYP1A* participa en la fase I (modificación), en la que tienen lugar las reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis. La función de la etapa de modificación es hacer que los metabolitos de los xenobióticos sean más solubles en agua y, por lo tanto, facilitar



su excreción [24]. La expresión del gen *CYP1A* es inducida significativamente por los HAPs y los hidrocarburos aromáticos halogenados, predominantemente pesticidas [25,26] y se considera un biomarcador centinela para estos contaminantes [21]. Medir la expresión del gen *CYP1A* en peces es un procedimiento válido para cuantificar la exposición a contaminantes acuáticos, ya que existe una relación directa entre la inducción de este gen y los niveles de contaminantes presentes en el agua [22]. La inducción del gen *CYP1A* ha sido objeto de una amplia investigación en peces salvajes y en condiciones in vitro, con el objetivo de detectar y monitorear la exposición a contaminantes [27,28].

Los métodos tradicionales para evaluar contaminantes en ecosistemas acuáticos se basan en estudios de toxicidad que analizan estos compuestos cualitativa y cuantitativamente [29]. Sin embargo, muchos de estos métodos no pueden detectar contaminantes en concentraciones muy bajas [30].

Los enfoques moleculares y celulares pueden superar estas limitaciones y son vitales para detectar los efectos subletales y crónicos de los contaminantes, así como su relación con las alteraciones ecológicas. Además, también pueden alertarnos sobre los peligros potenciales específicos de las sustancias químicas en las poblaciones silvestres [31,32].

Los análisis de expresión genética nos permiten acumular conocimiento asociado con la exposición a contaminantes y su relación con la respuesta fisiológica de los organismos [33]. Las alteraciones en los niveles de transcripción de un gen son a menudo el resultado de la exposición a toxinas y, por lo tanto, son un punto final útil y cuantificable de toxicidad que puede indicar los primeros signos visibles de deterioro de la salud [34,35].

Algunas especies de peces son consideradas bioindicadores de contaminación hídrica debido a su tolerancia y disponibilidad en sitios contaminados [36,37]. *Pterygoplichthys spp.* TN Gill 1858 (Siluriformes: Locariidae), también conocido como bagre acorazado, plecos o pez diablo, ha sido reconocido como un



bioindicador de contaminación acuática [38]. El pez bagre acorazado es un bioindicador ideal para monitorear hábitats altamente degradados debido a su notable capacidad de supervivencia, asociada a su tolerancia a la hipoxia, ya que respira aire a través de un estómago modificado [39,40], además tienen la capacidad de vivir en aguas con muy bajas concentraciones de O₂ y calidad de agua no apta para soportar vida acuática, y una mayor resistencia a contaminantes orgánicos que otras especies, gracias a un sistema de desintoxicación altamente diverso (defensoma) y características fisiológicas que incluyen una mayor resistencia a xenobióticos orgánicos en general [41,42].

Por lo tanto, en este estudio, se evaluó a esta especie para identificar las condiciones ambientales de diferentes sistemas acuáticos. Estos bagres pertenecen al orden Siluriformes y a la familia Loricariidae. Son originarios de Sudamérica (cuenca del río Amazonas), viven en agua dulce y son detritívoros-herbívoros [43,44]; sin embargo, actualmente se distribuyen como especie invasora en los ríos y lagos de la región sur del Golfo de México, que incluye la cuenca Grijalva-Usumacinta [45].

La cuenca baja del río Grijalva–Usumacinta incorpora la llanura costera del Golfo de México y cubre una gran superficie del estado de Tabasco [46]. Esta región presenta elevada carga de contaminantes derivada de las prácticas agrícolas y petroleras [47,48]. Las condiciones ambientales prevalecientes en el área han impulsado numerosas investigaciones enfocadas en identificar contaminantes en el suelo, agua, sedimentos y algunos organismos acuáticos mediante métodos tradicionales [49,50]. Además, en menor medida, se han realizado estudios implementando un enfoque molecular en peces e invertebrados para evaluar contaminantes [51,52].

En localidades de la cuenca baja del río Grijalva-Usumacinta, se han observado efectos atribuibles a la contaminación en diversos organismos, lo que motivó nuestra investigación para analizar la expresión génica en este bagre en relación



con la presencia de contaminantes. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación es comparar los niveles de expresión del gen *CYP1A* en bagres acorazados en tres sitios con diferentes niveles reportados de contaminación durante las épocas seca y lluviosa en la cuenca baja del río Grijalva-Usumacinta. Los hallazgos de este estudio servirán como indicadores de la salud ecológica de esta cuenca, facilitando la identificación de localidades con mayor presencia de PHAs. Esto contribuirá al diseño de planes de manejo y conservación más apropiados y efectivos en esta subcuenca. Finalmente, esta información también será útil para la preservación de especies nativas y en peligro de extinción que comparten hábitat con esta especie de bagre.

Materiales y métodos

Área de estudio

Los ríos Grijalva y Usumacinta son dos de los ríos más caudalosos de México [53] y constituyen la Región Hidrológica Grijalva-Usumacinta [54]. La cuenca baja del río Grijalva-Usumacinta presenta un clima cálido y lluvioso [55]; la precipitación pluvial en esta región se distingue por tener ondas tropicales del este en verano y frentes fríos en invierno [56].

El muestreo se realizó en tres localidades del estado de Tabasco, cada una con diferentes niveles de contaminación (Figura II-2). Se seleccionaron dos puntos de muestreo en la subcuenca baja del río Grijalva: 1: río Bitzales (Bit-G) (92°22'5.61" O, 18°1'48.42" N), en el municipio de Macuspana y 2: Ribera Alta (RA-G) (92°33'23.43" O, 18°22'32.53" N), en el municipio de Centla. Ambas localidades se ubican dentro de la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla (RBPC), una importante Área Natural Protegida Federal que forma parte del Corredor Biológico Mesoamericano y que se caracteriza por un alto nivel de biodiversidad [57]. Sin embargo, la subcuenca baja del río Grijalva ha sufrido numerosos impactos humanos que han propiciado una degradación sustancial de la integridad hídrica y



de los sistemas fluviales [58,59]. Esta subcuenca se ha visto afectada por presiones antropogénicas, como la extracción de petróleo, la agricultura y las aguas residuales sin tratar [58,60]. Además, la edificación de cuatro grandes represas hidroeléctricas sobre la corriente principal del río Grijalva han modificado el flujo natural del río, [61,62]. En este contexto, varios estudios realizados en esta región han reportado la presencia de metales pesados [49,63], hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) [64,65] y agroquímicos en el suelo, agua, sedimentos y organismos acuáticos de la región [50]. El tercer sitio de estudio fue la Laguna Chaschoc (CL-U) (91°42'59.22" O, 17°47'21.90" N), ubicada en el municipio de Emiliano Zapata, un área influenciada por la subcuenca baja del río Usumacinta. CL-U es parte del humedal Chaschoc, una zona relevante para la preservación biológica [66,67]. A diferencia del río Grijalva, el río Usumacinta es considerado como el "último río vivo" de México debido a la ausencia de gran infraestructura hidráulica y extensos asentamientos urbanos, lo que le permite conservar su caudal natural [68,69] y una calidad de agua superior en comparación con el río Grijalva [70]. Sin embargo, el río Usumacinta enfrenta un conjunto de amenazas asociadas a la actividad agrícola intensiva, especialmente el establecimiento de monocultivos de arroz (*Oryza sativa*) y palma aceitera (*Elaeis guineensis*) [67], que representan un riesgo inminente para la conservación de esta subcuenca.

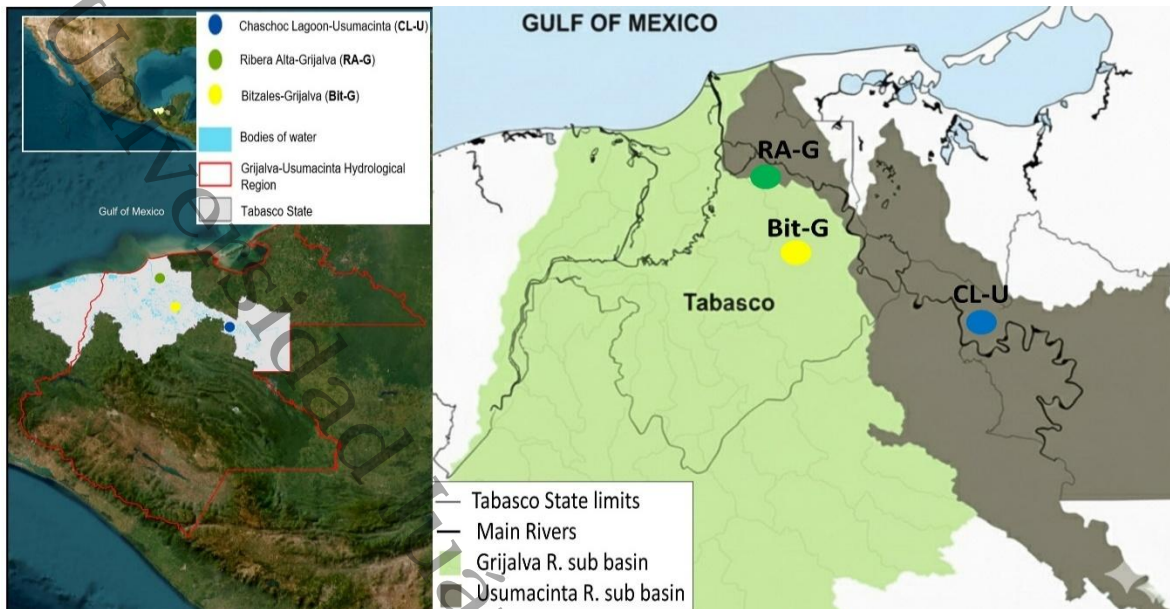


Figura II-2. Localidades de muestreo en la cuenca baja del río Grijalva-Usumacinta en la llanura costera del Golfo de México, en el Estado de Tabasco, México.

Recolección de muestras

Se recolectaron un total de 50 muestras de bagres adultos silvestres (Figura II-3) para el estudio, de estas, solo 29 muestras presentaron la integridad y calidad del ARN para el análisis de expresión génica (ver Tabla II-1). Los peces fueron recolectados por pescadores locales utilizando atarrayas durante las temporadas seca y lluviosa (abril-junio y noviembre-diciembre de 2021, respectivamente) en tres localidades de la cuenca baja del río Grijalva-Usumacinta. La longitud corporal de los organismos osciló entre 30 y 45 cm. Una vez capturados, los organismos vivos fueron transportados en cubetas con agua durante un periodo no mayor a ocho horas al Laboratorio de Genómica de la División Académica de Ciencias Biológicas (Universidad Juárez Autónoma de Tabasco) para su posterior análisis. Los peces fueron sacrificados de acuerdo con las indicaciones establecidas en la Norma Oficial Mexicana NOM-033-SAG/ZOO-2014 [71]. Se extrajeron los hígados de cada pez y se cortaron en trozos de 100 mg, se trituraron inmediatamente con nitrógeno líquido



y se almacenaron en tubos de microcentrífuga de 1,5 mL a -80 °C para la posterior extracción de ARN.



Figura II-3. Bagre acorazado recolectado en la cuenca baja del río Grijalva-Usumacinta.

Tabla II-1. Número de muestras recolectadas por temporada y localidad.

Localidad	Temporada de	Temporada de	Total
	secas	lluvias	
	(n)	(n)	
Bit-G	5	4	9
RA-G	5	6	11
CL-U	5	4	9
Total (N)			29

Aislamiento de ARN y análisis de expresión génica

Se aisló el ARN total de 50 a 100 mg de cada muestra de hígado mediante el método de fenol-cloroformo [72]. El ADN genómico se eliminó con DNasa I (Thermo Scientific, Vilnius, Lituania). La pureza y la concentración se cuantificaron con el sistema de espectrofotómetro Epoch (Agilent BioTek, Inc., Winooski, VT, EE. UU.). La síntesis de ADNc se realizó con el kit High-Capacity RNA-to-cDNA™ (Applied Biosystem, Foster City, CA, EE. UU.) siguiendo las instrucciones del fabricante y se almacenó a -20 °C hasta su posterior análisis.

Diseño de oligonucleótidos

Los oligonucleótidos degenerados se diseñaron utilizando Geneious Prime® v2023.1.2 (<https://www.geneious.com>, consultado el 11 de mayo de 2021, Boston,



MA, EE. UU.). Para el diseño del gen de interés *CYP1A*, nos basamos en el alineamiento de múltiples especies obtenidas de GenBank (*Ancistrus sp.* HM043796; *Corydoras sp.* HM043797; *Hypostomus affinis* HM043798; *Pterygoplichthys spp.* HM043795), obteniendo el siguiente par de oligonucleótidos: F:TGTACCTGGTMAAGAGGCTGC; R:RCAGATGACATTTGCCACAGATAC, con un tamaño de 95 pb. Para el diseño del gen de referencia, *GAPDH*, basamos nuestro trabajo en el alineamiento de las siguientes especies (*Ictalurus punctatus* NM_001201199; *Pangasianodon hypophthalmus* XM_026926330; *Tachysurus fulvidraco* XM_027149217; *Silurus meridionalis* XM_046847779), obteniendo el siguiente par de oligonucleótidos: F:GCTGGAATTGCCCTKAATGATCA; R:CTTGGATGCCATGTAGGCCAT, con un tamaño de 108 pb. Este gen ha sido reportado en otras especies de peces como un gen de referencia estable [73]. Ambos pares de oligonucleótidos fueron sintetizados por Integrated DNA Technologies.

Análisis de PCR cuantitativa

La PCR en tiempo real se realizó en la plataforma Rotor-Gene Q (QIAGEN, Germantown, MD, EE. UU.). La reacción de PCR se ajustó a un volumen final de 20 μ L, utilizando 1 μ L de ADNc (500 ng), 10 μ L de 2X PowerUp SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems, Austin, TX, EE. UU.), 0.5 μ L de cada cebador y 8 μ L de agua libre de nucleasas (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MD, EE. UU.). Todas las muestras se analizaron por duplicado y se incluyó un control sin ADNc (NTC) en cada ejecución. El protocolo de amplificación se desarrolló con las siguientes condiciones: 95 °C durante 3 min, seguido de 40 ciclos de 95 °C durante 10 y 60 °C durante 30 s. Confirmamos la especificidad de los productos de qPCR y verificamos que no se habían amplificado dímeros de oligonucleótidos mediante un análisis de disociación (curva de fusión) y electroforesis en gel de agarosa al 2%, Agarosa ultrapura (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE. UU.), TAE1X, 100 pb DNA Ladder (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE. UU.) y 10x Blue Juice (Invitrogen, EE. UU.) y bromuro de etidio (Invitrogen, EE. UU.) [74]. La normalización de los datos de expresión



génica se realizó utilizando *GAPDH*. Los resultados se expresan como la relación entre el ciclo umbral (Ct) del gen de referencia (*GAPDH*) y el del gen diana o de interés (*CYP1A*) [75]. La estabilidad del gen de referencia se evaluó utilizando el algoritmo BestKeeper [76].

Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron en R (versión 4.3.3) [77]. Para evaluar las diferencias en la razón Ct media entre localidades y temporadas, se llevó a cabo un análisis de varianza de dos vías (ANOVA), seguido de un análisis posterior de comparaciones múltiples utilizando la prueba HSD de Tukey con interacciones en el paquete ggstatsplot [78]. La normalidad se verificó con la prueba de Shapiro utilizando el paquete Stat, versión 3.6.2, y la homocedasticidad con la prueba de Levene, utilizando el paquete car [79].

Resultados

De los tres sitios evaluados en este estudio, RA-G presentó los valores de expresión más altos. Con respecto a las variaciones en la expresión del gen *CYP1A* para las tres localidades durante la temporada seca y lluviosa, la implementación del ajuste HSD de Tukey en la comparación post hoc (Figura II-4) reveló las diferencias significativas entre los siguientes localidades y temporadas: entre RA-G durante la temporada lluviosa y Bit-G durante la temporada seca y lluviosa, entre RA-G durante la temporada lluviosa y CL-U durante la temporada seca, entre la temporada lluviosa y seca para CL-U, y entre RA-G y CL-U durante la temporada de seca. Solo CL-U presentó diferencias entre temporadas.

Del ANOVA de dos vías considerando la localidad, la interacción estacional mostró diferencias significativas entre los dos factores principales (Localidad: $F= 7.55$, $p= 0.003$, Temporada: $F=10.08$, $p= 0.004$) y ningún efecto significativo en la interacción (localidad: estación $F = 2.88$, $p= 0.076$).

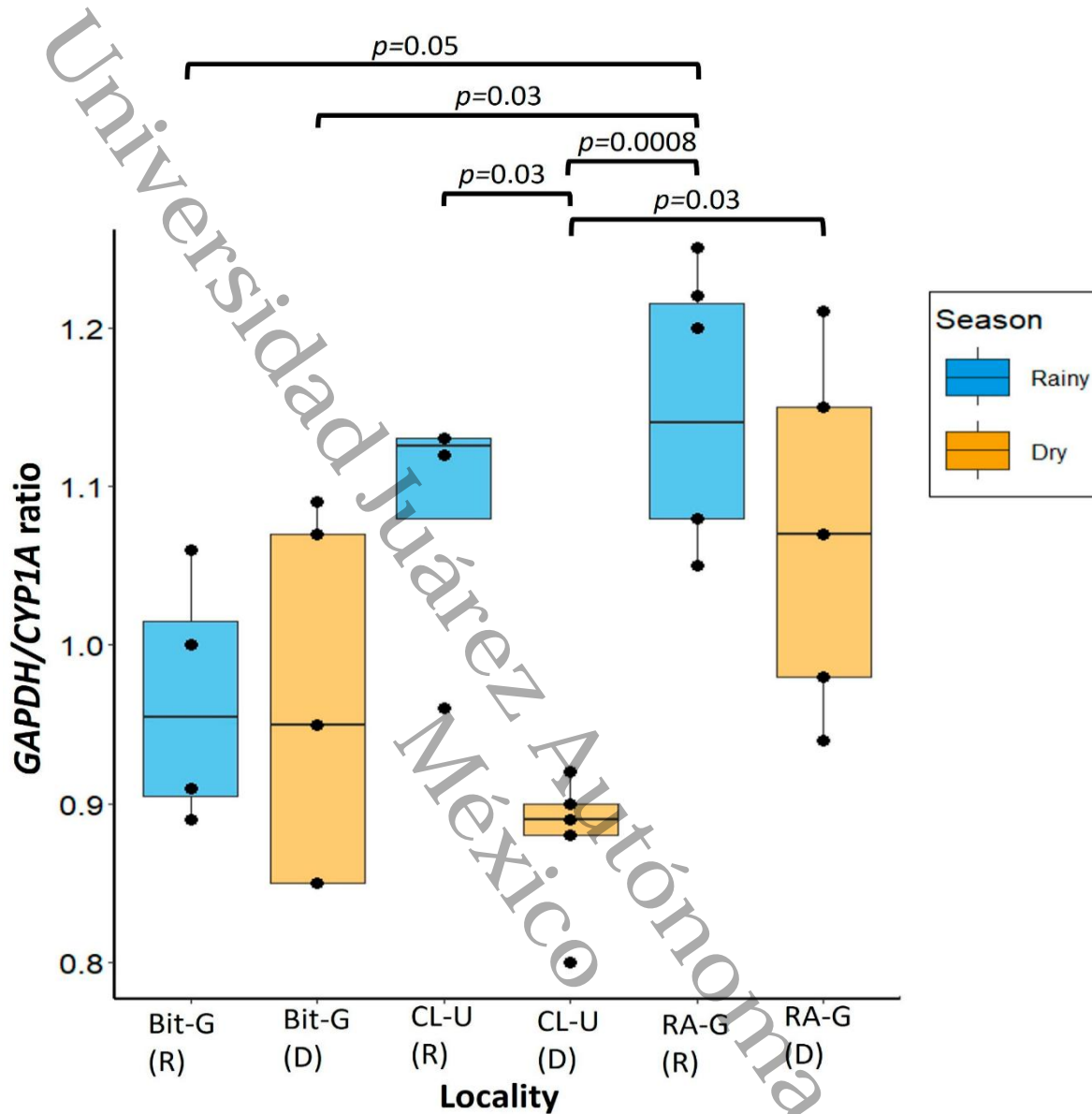


Figura II-4. Expresión del gen *CYP1A* entre localidades agrupadas por estación. Los diagramas de cajas muestran la distribución de los valores normalizados del ciclo umbral (Ct) del gen *CYP1A* (*GAPDH* / *CYP1A*). Cada caja presenta los valores de la mediana (línea negra gruesa en la caja) con cuartiles en las partes superior e inferior de las cajas. Los valores mínimos y máximos están representados por los bigotes y los valores atípicos están representados por los círculos negros. Los valores de p muestran las principales diferencias significativas.

GAPDH: Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa. *CYP1A*: Citocromo P450 1A.



Discusión

Esta investigación evaluó la expresión del gen *CYP1A* en el hígado del bagre acorazado en tres sitios de la subcuenca inferior del río Grijalva-Usumacinta. Los niveles más altos de transcripción de ARNm se detectaron en la localidad RA-G (Figura II-4), ubicada en la subcuenca inferior del río Grijalva (Figura II-2), aunque la expresión fue evidente en los tres sitios. Estos resultados en RA-G coinciden con informes de deterioro en la calidad del agua en esta subcuenca [58,60]. Esto se alinea con un patrón más amplio observado en otras especies de peces; por ejemplo, se informó una alta expresión de *CYP1A* en *Ariopsis felis Linnaeus*, 1766 (Actinopterygii: Siluriformes: Ariidae) recolectada de ecosistemas costeros contaminados dentro de la misma cuenca que este estudio [52].

La localidad RA-G es propensa a recibir sedimentos y contaminantes de las subcuencas de los ríos Usumacinta y Grijalva. Los sedimentos funcionan como importantes sumideros de materia orgánica e hidrocarburos [80], con una notable acumulación de HAPs altamente persistentes e hidrofóbicos [81]. Estudios han documentado altos niveles de sólidos suspendidos en los ríos Grijalva y San Pedro [82], y HAPs específicamente en los suelos de la estación Ribera Alta de la RBPC [64]. Eventos históricos como el derrame de petróleo del pozo Kab 121 en 2007 [83], que impactó la pluma del río Grijalva, subrayan aún más este riesgo, un estudio posterior encontró altas concentraciones de HAPs de bajo peso molecular en el hígado ($133,5 \pm 84,9 \mu\text{g/g}$ y $75,9 \pm 50,2 \mu\text{g/g}$ en el primer y segundo muestreo, respectivamente) de *Ariopsis felis*, indicativo de exposición crónica, con el promedio de HAPs encontrados en el hígado de estos peces. Por lo tanto, la interacción entre la hidrodinámica de estas aguas y las propiedades de los contaminantes facilita su acumulación en sedimentos y en el bagre.

Los hábitos alimenticios del bagre acorazado implican consumir detritos, que obtienen al raspar materia orgánica, restos de plantas superiores e invertebrados acuáticos bentónicos tanto de los sedimentos como de las superficies de las plantas



[84,85], lo que contribuye a la bioacumulación de contaminantes presentes en los sedimentos. Un estudio enfocado en la cuantificación de metales pesados entre peces carnívoros y detritívoros en un río subtropical en Brasil encontró las concentraciones más altas en peces detritívoros [86]. En relación con lo anterior, los niveles de expresión identificados en este estudio, especialmente en RA-G, pueden correlacionarse con los reportes de acumulación de sedimentos en el río Grijalva.

Al realizar el modelo con interacciones entre localidades y temporadas, observamos que, en la temporada de lluvias, el nivel de expresión en RA-G aumentó. El análisis estacional de las muestras reveló que en la época de lluvias exhibió consistentemente los niveles más altos de expresión. Esta observación es consistente con el aumento del arrastre de sedimentos en este período; estudios previos han reportado mayores concentraciones de sólidos suspendidos totales (SST) en los ríos y lagunas de Tabasco durante esta temporada [59]. Además, Salcedo et al. [87] relacionaron las temporadas de inundaciones en la RBPC con una mayor perturbación e hipereutrofización, correlacionándose con la distribución de SST y fósforo total (PT). De manera similar, el aumento de las precipitaciones en el río Grijalva se correlaciona con niveles elevados de minerales, turbidez y coliformes totales [59]. Cardoso-Mohedano et al. [88] informaron que, en la temporada de lluvias, los altos niveles de descargas de nutrientes del sistema de los ríos Grijalva-Usumacinta hacia la zona litoral costera incrementan significativamente la disponibilidad de nutrientes.

La ubicación de CL-U exhibió variaciones significativas entre temporadas (Figura II-4). Durante la temporada de secas y lluvias, hubo una disminución y un aumento correspondientes en la expresión, respectivamente. La baja expresión en la temporada seca se puede explicar por diferentes hipótesis: (1) bajas concentraciones de hidrocarburos aromáticos policíclicos en CL-U en la temporada de secas, esta hipótesis se correlaciona con informes de niveles más bajos de contaminación en la subcuenca baja del río Usumacinta en comparación con la subcuenca baja del río Grijalva [69,70]. (2) Condiciones hipóxicas, en peces se ha



establecido una relación entre la expresión disminuida de *CYP1A* y las condiciones hipóxicas [89,90,91]. La hipoxia, caracterizada por oxígeno tisular insuficiente para la homeostasis [92], a menudo se ve exacerbada por la eutrofización, una causa importante del agotamiento del oxígeno acuático que pone en peligro a los organismos acuáticos [93,94]. En consonancia con lo anterior, un estudio de Esqueda-Lara et al. [95] en el humedal Chaschoc (CL-U) identificó nuevos registros de fitoplancton durante la temporada seca, incluyendo especies indicativas de contaminación de materia orgánica y eutrofización. Estas condiciones eutróficas documentadas durante el período seco en CL-U indican fuertemente un estrés hipóxico subyacente, lo que explica los bajos niveles de expresión de *CYP1A* que encontramos. (3) Los bagres han desarrollado una tolerancia a estos contaminantes al adaptarse a los ambientes contaminados predominantes [41,42]; se necesitan estudios con un mayor número de muestras para evaluar estos problemas en profundidad. En contraste, el aumento en la expresión de *CYP1A* durante la temporada de lluvias puede estar relacionado con las altas concentraciones de TSS, TP, nitratos y coliformes reportadas en esta temporada en la subcuenca baja del río Usumacinta [96]. Por lo tanto, consideramos que la Hipótesis 2 explica mejor la baja expresión en este sitio.

Una característica biológica clave del bagre acorazado es que exhibe resiliencia a la calidad degradada del agua y se observa con frecuencia en ambientes contaminados [41]. La investigación sobre *Pterygoplichthys anisitsi*, Eigenmann y Kennedy 1903 (Siluriformes: Loricariidae) ha revelado una gama diversa de transcripciones para enzimas involucradas en la desintoxicación de xenobióticos [42]. Esta notable adaptación hace que estos bagres sean excelentes candidatos para el biomonitoreo en los ambientes eutróficos y altamente contaminados de la región, tanto en temporada de secas como en la de lluvias.



Conclusiones

La expresión del gen *CYP1A* observada en el bagre acorazado indica un mecanismo de respuesta a los HAPs, que presenta una variabilidad relacionada con la ubicación geográfica y los cambios estacionales. Dada la presencia constante de sedimentos, hidrocarburos y HAPs en los cuerpos de agua de Tabasco, particularmente en ciertas temporadas, nuestros hallazgos resaltan la exposición crónica a la que se enfrentan los organismos acuáticos en esta región. Las observaciones realizadas en CL-U muestran un posible aumento en la concentración de contaminantes en esta región, que se ha considerado con un nivel menor de contaminación; por lo tanto, es crucial continuar monitoreando esta área. La notable resiliencia del bagre acorazado a condiciones adversas, como la contaminación, lo posiciona como un bioindicador invaluable para evaluar el estrés ambiental. Además, este trabajo también respalda la efectividad del gen *CYP1A* como biomarcador centinela de contaminantes. En futuras investigaciones, es necesario cuantificar la expresión génica de otros genes involucrados en la cascada de desintoxicación celular. Además, es esencial ampliar el tamaño de las muestras e integrar métricas convencionales, como la espectrofotometría, para identificar contaminantes y lograr así una comprensión más sólida de los impactos xenobióticos en estos ecosistemas.



Materiales suplementarios

Tabla II-2. Resumen de los valores de Ct del gen *CYP1A* en el bagre acorazado.

Locality	Bit-G				CL-U				RA-G			
	mean	sd	min	mx	mean	min	max	sd	mean	sd	min	max
Dry season	0.962	0.115	0.85	1.09	0.878	0.8	0.92	0.046	1.07	0.113	0.94	1.21
Rainy Season	0.965	0.079	0.89	1.06	1.085	0.96	1.13	0.083	1.147	0.086	1.05	1.25

Bit-G: Bitzales in Grijalva sub-basin; CL-U: Chaschoc lagoon in Usumacinta sub-basin; RA-G: Ribera Alta in Grijalva sub-basin. sd: standard deviation; min: minimum value; max: maximum value.

Tabla II-3. Resumen de los valores de Ct del gen *GAPDH* en el bagre acorazado.

Locality	Bit-G				CL-U				RA-G			
	mean	sd	min	mx	mean	sd	min	max	mean	sd	min	max
Dry season	0.886	0.106	0.783	1.004	0.815	0.043	0.743	0.854	1.134	0.12	0.997	1.283
Rainy Season	0.98	0.081	0.904	1.077	1.109	0.085	0.981	1.155	1.324	0.1	1.212	1.443

Bit-G: Bitzales in Grijalva sub-basin; CL-U: Chaschoc lagoon in Usumacinta sub-basin; RA-G: Ribera Alta in Grijalva sub-basin. sd: standard deviation; min: minimum value; max: maximum value.

Contribuciones del autor

GG-C. fue responsable de la recolección de muestras, la realización de análisis de laboratorio, la redacción del borrador del artículo y la financiación de parte del muestreo y los reactivos. JML-G. fue responsable del diseño del estudio, la financiación de los reactivos y la revisión y corrección del manuscrito. LDO-G. contribuyó al diseño del estudio, el análisis estadístico de los resultados y la revisión y corrección del manuscrito. EdC-H. brindó asesoramiento sobre el desarrollo del análisis de expresión génica. SM-M. corrigió y revisó el manuscrito. BM-V. ayudó con la financiación de los reactivos. GP-M. contribuyó a la recolección de muestras. HMD-L. diseñó el mapa del área de estudio. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

Fondos

Esta investigación no recibió financiación.



Declaración de la Junta de Revisión Institucional

No se requirió la aprobación de comités de ética de investigación para lograr los objetivos de este estudio, ya que el trabajo experimental se realizó con una especie de pez invasor no regulada. Los especímenes se sacrificaron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-033-/SAG/ZOO-2014 [71].

Declaración de disponibilidad de datos

Las contribuciones originales presentadas en este estudio se incluyen en el artículo/ Materiales suplementarios. Para más información, contacte con los autores de correspondencia.

Expresiones de gratitud

El primer autor agradece la beca (592712) otorgada por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) para sus estudios de doctorado en la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. El primer autor también agradece sinceramente al Ecólogo Jesús Manuel Félix Hernández por su valiosa contribución a la colección de peces. Gracias a ECOSUR, unidad Chetumal, y a Sac-Tun por su apoyo en la adquisición de reactivos para esta investigación.

Conflictos de intereses

Los autores no tienen intereses financieros o no financieros relevantes que revelar.



Referencias

1. Hampel, M.; Blasco, J.; Segner, H. Molecular and cellular effects of contamination in aquatic ecosystems. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2015**, *22*, 17261–17266. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5565-5>.
2. Bhat, R.A.; Mehmood, M.A.; Dervash, M.A.; Mushtaq, N.; Bhat, J.I.A.; Dar, G.H. Current status of nutrient load in Dal Lake of Kashmir Himalaya. *J. Pharmacog Phytochem.* **2017**, *6*, 165–169.
3. Javed, M.; Ahmad, I.; Usmani, N.; Ahmad, M. Studies on biomarkers of oxidative stress and associated genotoxicity and histopathology in *Channa punctatus* from heavy metal polluted canal. *Chemosphere* **2016**, *151*, 210–219. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.080>.
4. Haque, S.; Mondal, S.; Kundu, D.; Ghosh, A.R. Effect of multiple polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on liver of three teleostean fishes *Labeobata*, *Labeorohita* and *Cirrhinus mrigala* in Burdwan Loco Tank, Burdwan, West Bengal, India. *Austin Environ. Sci.* **2017**, *2*, 1017.
5. Celik-Saglam, I.; Balcik, C.; Cetin, B. Concentrations, sources, and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in black, green and fruit flavored tea in Turkey. *J. Food Compos. Anal.* **2022**, *109*, 104504. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104504>.
6. Świt, P.; Orzeł, J.; Maślanka, S. Investigation of the origin and concentration of polycyclic aromatic hydrocarbon with improved accuracy by the use of a multi-component integrated calibration method in the Katowice region, Poland. *J. Hazard. Mater.* **2023**, *448*, 130871. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.130871>.
7. Pies, C.; Hoffmann, B.; Petrowsky, J.; Yang, Y.; Ternes, T.A.; Hofmann, T. Characterization and source identification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in river bank soils. *Chemosphere* **2008**, *72*, 1594–1601.
8. Rengarajan, T.; Rajendran, P.; Nandakumar, N.; Lokeshkumar, B.; Rajendran, P.; Nishigaki, I. Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons with special focus on cancer. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* **2015**, *5*, 182–189.



9. Honda, M.; Suzuki, N. Toxicities of polycyclic aromatic hydrocarbons for aquatic animals. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2020**, *17*, 1363. <https://doi.org/10.3390/ijerph17041363>.
10. Ladwani, K.D.; Ladwani, K.D.; Ramteke, D.S. Assessment of poly aromatic hydrocarbon (PAH) dispersion in the near shore environment of Mumbai, India after a large scale oil spill. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **2013**, *90*, 515–520. <https://doi.org/10.1007/s00128-012-0955-6>.
11. Authman, M.M.; Ibrahim, S.A.; El-Kasheif, M.A.; Gaber, H.S. Heavy metals pollution and their effects on gills and liver of the Nile Catfish inhabiting El-Rahawy Drain, Egypt. *Glob. Vet.* **2013**, *10*, 103–115. <https://doi.org/10.5829/idosi.gv.2013.10.2.71226>.
12. Yadetie, F.; Zhang, X.; Hanna, E.M.; Aranguren-Abadía, L.; Eide, M.; Blaser, N.; Karlsen, O.A. RNA-Seq analysis of transcriptome responses in Atlantic cod (*Gadus morhua*) precision-cut liver slices exposed to benzo [a] pyrene and 17 α -ethynylestradiol. *Aquat. Toxicol.* **2018**, *201*, 174–186. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.06.003>.
13. Meador, J.P.; Stein, J.E.; Reichert, W.L.; Varanasi, U. Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by marine organisms. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* **1995**, *143*, 79–165. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2542-3_4.
14. Ardeshir, R.A.; Movahedinia, A.A.; Rastgar, S. Fish liver biomarkers for heavy metal pollution: A review article. *Am. J. Tox.* **2017**, *2*, 1–8.
15. dos Santos Carvalho, C.; Bernusso, V.A.; de Araújo, H.S.S.; Espíndola, E.L.G.; Fernandes, M.N. Biomarker responses as indication of contaminant effects in *Oreochromis niloticus*. *Chemosphere* **2012**, *89*, 60–69. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.04.013>.
16. Kaptaner, B.; Kankaya, E.; Doğan, A.; Çelik, İ. Histopathology and oxidative stress in the liver of *Chalcalburnus tarichi* living in lake Van, Turkey. *Life Sci. J.* **2014**, *11*, 66–77.
17. Minarik, T.A.; Vick, J.A.; Schultz, M.M.; Bartell, S.E.; Martinovic-Weigelt, D.; Rearick, D.C.; Schoenfuss, H.L. On-site exposure to treated wastewater effluent has subtle effects on male fathead minnows and pronounced effects on carp.



- JAWRA *J. Am. Water Resour. Assoc.* **2014**, *50*, 358–375. <https://doi.org/10.1111/jawr.12167>.
18. Rahmanpour, S.; Farzaneh Ghorghani, N.; Lotfi-Ashtiyani, S.M. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) in four fish species from different trophic levels in the Persian Gulf. *Environ. Monit. Assess.* **2014**, *186*, 7047–7053.
 19. Lee, R.F.; Anderson, J.W. “Significance of cytochrome P450 system responses and levels of bile fluorescent aromatic compounds in marine wildlife following oil spills”. *Mar. Pollut. Bull.* **2005**, *50*, 705–723.
 20. Sabbioni, G.; Jones, C.R.; Sepai, O.; Hirvonen, A.; Norppa, H.; Järventaus, H.; Glatt, H.; Pomplun, D.; Yan, H.; Brooks, L.R.; et al. Biomarkers of exposure, effect, and susceptibility in workers exposed to Nitrotoluenes. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* **2006**, *15*, 559–566. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-05-0677>.
 21. Nambiar, S.P.; Pillai, D.; Nair, S.N.; Krishnan, R. Ecotoxicological significance of cytochrome P450 in fish encompassing xenobiotic detoxification and physiological regulation. *Discov. Biotechnol.* **2025**, *2*, 38.
 22. Williams, R.; Taggart, T.; Ganger, K.; Koetsier, T.; Johnson, S.; Dinchman, A. CYP1A expression in freshwater fish of western New York as an indicator of pollution levels. *Ecol. Evol.* **2022**, *12*, e8526.
 23. Alqahtani, M.A.; El-Ghiaty, M.A.; El-Kadi, A.O.S. El mercurio y el metilmercurio modulan diferencialmente el citocromo P450 hepático 1A1 y 1A2 in vivo e in vitro. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* **2023**, *37*, e23243. <https://doi.org/10.1002/jbt.23243>.
 24. Lynch, T.; Price, A. The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. *Am. Fam. Physician* **2007**, *76*, 391–396.
 25. Sergent, T.; Dupont, I.; Jassogne, C.; Ribonnet, L.; Van Der Heiden, E.; Scippo, M.L.; Muller, M.; McAlister, D.; Pussemier, L.; Larondelle, Y.; et al. CYP1A1 induction and CYP3A4 inhibition by the fungicide imazalil in the human intestinal Caco-2 cells—Comparison with other conazole pesticides. *Toxicol. Lett.* **2009**, *184*, 159–168. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2008.11.009>.



26. Abd El Megid, A.; Abd Al Fatah, M.E.; El Asely, A.; El Senosi, Y.; Moustafa, M.M.; Dawood, M.A. Impact of pyrethroids and organochlorine pesticides residue on IGF-1 and CYP1A genes expression and muscle protein patterns of cultured *Mugil capito*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2020**, *188*, 109876. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109876>.
27. Rusni, S.; Sassa, M.; Takehana, Y.; Kinoshita, M.; Inoue, K. Correlation between cytochrome P450 1A (CYP1A) mRNA expression and ambient phenanthrene and pyrene concentration in Javanese Medaka *Oryzias javanicus*. *Fish. Sci.* **2020**, *86*, 605–613. <https://doi.org/10.1007/s12562-020-01428-y>.
28. Xie, S.; Zhou, A.; Feng, Y.; Zhang, Y.; Li, J.; Sun, Z.; Fan, L.; Zou, J. Cytochrome P450 1A mRNA in the *Gambusia affinis* and Response to Several PAHs. *Biochem. Genet.* **2020**, *58*, 551–565. <https://doi.org/10.1007/s10528-020-09955-0>.
29. Kadadou, D.; Tizani, L.; Alsafar, H.; Hasan, S.W. Analytical methods for determining environmental contaminants of concern in water and wastewater. *MethodsX* **2024**, *12*, 102582. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2024.102582>.
30. Anumol, T.; Merel, S.; Clarke, B.O.; Snyder, S.A. Ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for rapid analysis of trace organic contaminants in water. *Chem. Cent. J.* **2013**, *7*, 104. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-7-104>.
31. Relyea, R.; Hoverman, J. Assessing the ecology in ecotoxicology: A review and synthesis in freshwater systems. *Ecol. Lett.* **2006** *9*, 1157–1171.
32. Diamond, J.M.; Latimer, H.A.; Munkittrick, K.R.; Thornton, K.W.; Bartell, S.M.; Kidd, K.A. Prioritizing contaminants of emerging concern for ecological screening assessments. *Environ. Toxicol. Chem.* **2011**, *30*, 11. <https://doi.org/10.1002/etc.667>.
33. Fisher, M.A.; Oleksiak, M.F. Convergence and divergence in gene expression among natural populations exposed to pollution. *BMC Genom.* **2007**, *8*, 108. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-108>.



34. Bonde, R.K.; McGuire, P.M.; Hunter, M.E. A review of the key genetic tools to assist imperiled species conservation: Analyzing West Indian manatee populations. *J. Mar. Anim. Their Ecol.* **2012**, *5*, 8–19.
35. Bowen, L.; Miles, A.K.; Ballachey, B.; Waters, S.; Bodkin, J. Gene transcript profiling in sea otters post-Exxon Valdez oil spill: A tool for marine ecosystem health assessment. *J. Mar. Sci. Eng.* **2016**, *4*, 39.
36. Çelebi, H.; Bahadır, T.; Şimşek, İ.; Tulun, Ş. Danio rerio: A sustainable model for monitoring pollutants in aquatic environments. *Environ. Sci. Proc.* **2023**, *25*, 69. <https://doi.org/10.3390/ECWS-7-14310>.
37. Páez-Osuna, F.; Espinoza, A.C.; Figueroa, E.T.; Saucedo-Barrón, C.J.; Bergés-Tiznado, M.E. Tilapia as a model fish for biomonitoring of metal pollution in dams associated with mining watersheds: Contrasting diagnosis from different tissues and health risk assessment. *Environ. Geochem. Health* **2024**, *46*, 447. <https://doi.org/10.1007/s10653-024-02232-8>.
38. Viana, L.F.; Suárez, Y.R.; Cardoso, C.A.L.; Crispim, B.D.A.; Grisolia, A.B.; Lima-Junior, S.E. Mutagenic and genotoxic effects and metal contaminations in fish of the Amambai River, Upper Paraná River, Brazil. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2017**, *24*, 27104–27112.
39. Armbruster, J.W. Modifications of the digestive tract for holding air in loricariid and scoloplacid catfishes. *Copeia* **1998**, *1998*, 663–675.
40. Da Cruz, A.L.; Da Silva, H.R.; Lundstedt, L.M.; Schwantes, A.R.; Moraes, G.; Klein, W.; Fernandes, M.N. Air-breathing behavior and physiological responses to hypoxia and air exposure in the air-breathing loricariid fish, *Pterygoplichthys anisitsi*. *Fish Physiol. Biochem.* **2013**, *39*, 243–256.
41. Chávez, H.M.; Casao, E.A.; Villanueva, E.P.; Paras, M.P.; Guinto, M.C.; Mosqueda, M.B. Heavy metal and microbial analyses of janitor fish (*Pterygoplichthys* spp.) in Laguna de Bay, Philippines. *J. Environ. Sci. Manag.* **2006**, *9*, 31–40.
42. Parente, T.E.; Moreira, D.A.; Magalhães, M.G.; de Andrade, P.C.; Furtado, C.; Haas, B.J.; Stegeman, J.J.; Hahn, M.E. The liver transcriptome of suckermouth armoured catfish (*Pterygoplichthys anisitsi*, Loricariidae): Identification of



- expansions in defensible gene families. *Mar. Pollut. Bull.* **2017**, *115*, 352–361. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.12.012>.
43. Wakida-Kusunoki, A.T.; Amador-del Ángel, L.E.; Romero-Hernandez, E.; Robles, L.M.B. Range expansion of the invasive Amazon sailfin catfish, *Pterygoplichthys pardalis* (Castelnau, 1855), in the central and southeastern Gulf of Mexico. *Limnetica* **2016**, *35*, 297–302. <https://doi.org/10.23818/limn.35.24>.
44. Orfinger, A.B.; Gooding, D.D. The global invasion of the suckermouth armored catfish genus *Pterygoplichthys* (Siluriformes: Loricariidae): Annotated list of species, distributional summary, and assessment of impacts. *Zool. Stud.* **2018**, *57*, e7. <https://doi.org/10.6620/ZS.2018.57-07>.
45. Barba-Macías, E.; Juárez Flores, J.; Magaña-Vázquez, M. Nuevos registros de plecos (*Pterygoplichthys pardalis*) (Siluriformes: *Loricariidae*) en las cuencas del río Grijalva y Tonalá, Pajonal-Machona Tabasco. In *Distribución de Especies Invasoras: Casos de Estudio*; Low-Feng, A., Quijón, P.A., Peters-Recagno, E., Eds.; SEMARNAT, INECC, UPEI, Tlalpan, México, 2014; pp. 233–251.
46. Rubio, G.H.; Triana, R.C. Gestión Integrada de Crecientes. Caso de Estudio México: Río Grijalva. Available online: https://www.floodmanagement.info/publications/casestudies/cs_mexico_full.pdf (accessed on 25 April 2025).
47. Córdova-Carrillo, A.E.; Pérez-Sánchez, F.; Rodríguez-Quevedo, N.; Ovando-Hidalgo, C.; Zequeira-Larios, C. Agroquímicos utilizados en la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla: Una afectación indirecta para el Cocodrilo de Pantano (*Crocodylus moreletii*). *Emerg. Trends* **2010**, *17*, 31.
48. Ramos-Reyes, R.; Cruz, M.Á.; Cruz, J.Z. Impact of agricultural and oil activities on the natural covers of the Samaria oil field, Tabasco. *Rev. Mex. Cienc. Agrícolas* **2021**, *12*, 1429–1443.
49. Pérez-Cruz, Y.G.; Rangel-Ruiz, L.J.; Gamboa-Aguilar, J. Metales en almejas y sedimentos en la Reserva de la Biósfera “Pantanos de Centla” Tabasco, México. *Hidrobiológica* **2013**, *23*, 1–8.



50. Chi-Coyoc, T.; Escalona-Segura, G.; Vallarino-Moncada, A.; Vargas-Contreras, J.A.; Castillo-Vela, G.E.; Lara-Reyna, J. Plaguicidas organoclorados y anticolinérgicos en ratones silvestres en ecosistemas de humedales costeros del Golfo de México. *Therya* **2016**, 7, 465–482.
51. Zapata-Pérez, O.; Ceja-Moreno, V.; Olmos, M.R.; Pérez, M.T.; Rio-Garcia, M.D.; Yarto, M.; Mendoza-Cantú, A.; Ize-Lema, A.I.; Gavilán-García, A.; Sánchez-Teyer, L.F.; et al. Ecotoxicological effects of POPs on ariidae *Ariopsis felis* (Linnaeus, 1766) from three coastal ecosystems in the Southern Gulf of Mexico and Yucatan Peninsula. *J. Environ. Sci. Health Part A* **2007**, 42, 1513–1520.
52. Zapata-Perez, O.; Sanchez-Teyer, L.F.; Perez-Nunez, M.T.; Arroyo-Herrera, A.L.; Moreno, A.Q.; Albores-Medina, A. Response of CYP1A Gene expression in fish liver of catfish (*Ariopsis felis*) from Gulf of Mexico and their relationship with the genetic variability. *J. Environ. Sci. Health Part. A* **2010**, 45, 62–67. <https://doi.org/10.1080/10934520903388830>.
53. Muñoz-Salinas, E.; Castillo, M.; Sanderson, D.; Kinnaird, T.; Cruz-Zaragoza, E. Using three different approaches of OSL for the study of young fluvial sediments at the coastal plain of the Usumacinta–Grijalva River Basin, southern Mexico. *Earth Surf. Process. Landf.* **2016**, 41, 823–834. <https://doi.org/10.1002/esp.3880>.
54. Álvarez-Soberano, A.; Medrano-Pérez, O.R. Caracterización geomorfológica de la subcuenca río Mezcalapa, región hidrológica Grijalva-Usumacinta (RH-30) en sureste de México. *Investig. Cien UAA* **2020**, 80, 32–44.
55. García-García, A.; Kauffer Michel, E.F. Las cuencas compartidas entre México, Guatemala y Belice: Un acercamiento a su delimitación y problemática general. *Front. Norte* **2011**, 23, 131–161.
56. Andrade-Velázquez, M. Visión climática de la precipitación en la cuenca del Río Usumacinta. In *La Cuenca del Río Usumacinta Desde la Perspectiva del Cambio Climático*; Soares, D., García-García, A., Eds.; IMTA: Jiutepec, México, 2017; pp. 57–75.



57. López-Jiménez, L.N.; Jiménez-López, D.A.; Castillo-Acosta, O.; Gallardo-Cruz, J.A.; Fernández-Montes de Oca, A.I. Plantas vasculares de la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla, México. *Bot. Sci.* **2020**, *98*, 159–204.
58. Lázaro-Vázquez, A.; Castillo, M.M.; Jarquín-Sánchez, A.; Carrillo, L.; Capps, K.A. Temporal changes in the hydrology and nutrient concentrations of a large tropical river: Anthropogenic influence in the Lower Grijalva River, Mexico. *River Res. Appl.* **2018**, *34*, 649–660.
59. Musálem-Castillejos, K.; Laino-Guanes, R.; Bello-Mendoza, R.; González-Espinosa, M.; Ramírez-Marcial, N. Water quality of the Grijalva river on the Chiapas-Tabasco border. *Ecosistemas Y Recur. Agropecu.* **2018**, *5*, 55–64. <https://doi.org/10.19136/era.a5n13.1334>.
60. Plascencia-Vargas, J.H.; González-Espinosa, M.; Ramírez-Marcial, N.; Álvarez-Solís, D.; Musálem-Castillejos, K. Características físico-bióticas de la cuenca del río Grijalva. In *Montañas, Pueblos Y Aguas. Dimensiones Y Realidades de la Cuenca Grijalva*, 1st ed.; González-Espinosa, M., Brunel Manse, M.C., Eds.; ECOSUR: Tabasco, México, 2014; pp. 29–79.
61. Alcérreca-Huerta, J.C.; Callejas-Jiménez, M.E.; Carrillo, L.; Castillo, M.M. Dam implications on salt-water intrusion and land use within a tropical estuarine environment of the Gulf of Mexico. *Sci. Total Environ.* **2019**, *652*, 1102–1112.
62. Mendoza, A.; Berezowsky, M.; Caballero, C.; Arganis-Juárez, M. Alteration of the flow distribution at a river bifurcation caused by a system of upstream dams: Case of the Grijalva River basin, Mexico. *ESPL* **2022**, *47*, 509–521. <https://doi.org/10.1002/esp.5265>.
63. Mendoza-Carranza, M.; Sepúlveda-Lozada, A.; Dias-Ferreira, C.; Geissen, V. Distribution and bioconcentration of heavy metals in a tropical aquatic food web: A case study of a tropical estuarine lagoon in SE Mexico. *Environ. Pollut.* **2016**, *210*, 155–165. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.12.014>.
64. Díaz-González, G.; Cámara-Córdova, J.; Botello, A.V.; Ponce, G. Evaluación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en suelos hidromórficos de la reserva de la biósfera “Los pantanos de Centla” en Tabasco, México. *Rev. Int. Contam. Ambient.* **1996**, *12*, 15–21.



65. Castañeda-Chávez, M.D.R.; Emma, D.T.; Megchún-García, J.V.; García-Saldaña, A. Hydrocarbons and heavy metals in Macuspana, Tabasco, Mexico: Key stakeholders. *Agro Product*. **2021**, *14*, 113–120.
66. Regiones Terrestres Prioritarias de México. CONABIO. Available online: <http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/regionalizacion/doctos/terrestres.html> (accessed on 18 May 2025).
67. Gordillo-Chávez, E.J.; Mata, E.E.; García-Morales, R.; Morales, M.A.; Villanueva, C.; Valdez-Leal, J.D. Mastofauna del humedal Chaschoc-Sejá en Tabasco, México. *Therya* **2015**, *6*, 535–544.
68. Vázquez-Aguilar, C.; Florido-Araujo, R.A.; Nuñez-Lara, E. Evaluación de la condición ecológica de tres ambientes del humedal Chaschoc, cuenca del río Usumacinta, estimada a partir de tres grupos faunísticos y el índice de integridad biótica. In *III Congreso Sobre Los Recursos Acuáticos del Golfo de México Y Mar Caribe*; Amador-del Angel, L.E., López-Contreras, J.E., Endañu-Huerta, E., Eds.; UNACAR: Campeche, México, 2016; pp. 26–27.
69. Castillo-Cruz, Z.G.; Medrano-Pérez, O.R. Geomorphological analysis of the Usumacinta and Grijalva sub-basins in southeastern Mexico. *Acta Univ*. **2023**, *33*, e3684. <http://doi.org/10.15174.au.2023.3684>.
70. Horton, A.; Nygren, A.; Diaz-Perera, M.; Kumm, M. Flood severity along the Usumacinta River, Mexico: Identifying the anthropogenic signature of tropical forest conversion. *J. Hydrol. X* **2021**, *10*, 100072. <https://doi.org/10.1016/j.hydroa.2020.100072>.
71. Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana NOM-033-SAG/ZOO-2014. Métodos Para dar Muerte a Los Animales Domésticos Y Silvestres. México. Available online: https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5405210&fecha=26/08/2015#gsc.tab=0 (accessed on 18 March 2021).
72. Toni, L.S.; Garcia, A.M.; Jeffrey, D.A.; Jiang, X.; Stauffer, B.L.; Miyamoto, S.D.; Sucharov, C.C. Optimization of phenol-chloroform RNA extraction. *MethodsX* **2018**, *5*, 599–608. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2018.05.011>.



73. Jiang, B.; Li, Q.; Zhang, Z.; Huang, Y.; Wu, Y.; Li, X.; Huang, M.; Huang, Y.; Jian, J. Selection and evaluation of stable reference genes for quantitative real-time PCR in the head kidney leukocyte of *Oreochromis niloticus*. *Aquac. Rep.* **2023**, *31*, 101660. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101660>.
74. Gungl, A.; Biasin, V.; Wilhelm, J.; Olschewski, A.; Kwapiszewska, G.; Marsh, L.M. Fra2 overexpression in mice leads to non-allergic asthma development in an IL-13 dependent manner. *Front. Immunol.* **2018**, *9*, 2018. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02018>.
75. Abundis, E.M.; Hernandez-Landero, F.; Escobar-Calderon, G.; Gomez-Crisostomo, N.; Contreras-Paredes, A.; de la Cruz-Hernandez, E. Gene expression of cardiovascular risk markers in mononuclear cells of pregnant woman in relation to plasma leptin and homocysteine levels: A cross sectional study. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* **2024**, *165*, 350–360. <https://doi.org/10.1002/ijgo.15302>.
76. Pfaffl, M.W.; Tichopad, A.; Prgomet, C.; Neuvians, T.P. Determination of stable housekeeping genes, differentially regulated target genes and sample integrity: BestKeeper—Excel-based tool using pair-wise correlations. *Biotechnol. Lett.* **2004**, *26*, 509–515.
77. R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2024. Available online: <https://www.R-project.org/> (accessed on 7 April 2024).
78. Patil, I. “Visualizations with statistical details: The ‘ggstatsplot’ approach”. *J. Open Source Softw.* **2021**, *6*, 3167. Available online: <https://cran.r-project.org/doc/manuals/r-release/fullrefman.pdf> (accessed on 7 April 2024).
79. Fox, J.; Weisberg, S. *An R Companion to Applied Regression*, 3th ed.; Sage: Thousand Oaks CA, USA, 2019. Available online: <https://www.johnfox.ca/Companion/> (accessed on 8 April 2024).
80. Romero, I.C.; Schwing, P.T.; Brooks, G.R.; Larson, R.A.; Hastings, D.W.; Ellis, G.; Goddard, E.A.; Hollander, D.J. Hydrocarbons in deep-sea sediments following the 2010 Deepwater Horizon blowout in the northeast Gulf of Mexico. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0128371. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128371>.



81. Jesus, F.; Pereira, J.L.; Campos, I.; Santos, M.; Ré, A.; Keizer, J.; Nogueira, A.; Gonçalves, F.J.M.; Abrantes, N.; Serpa, D. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons distribution in freshwater ecosystems and their toxicity to benthic fauna. *Sci. Total Environ.* **2022**, *820*, 53282. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153282>.
82. De Lorenz-Santos, F.J.; Fernández-Villagómez, G.; Vázquez, F.; Cervini-Silva, J. Cluster and principal components analyses on the contents of (total and sorbed) trace metals in fresh marine sediments from the southwest of the Gulf of Mexico. *Ing. Investig. Technol.* **2013**, *14*, 511–522. [https://doi.org/10.1016/S1405-7743\(13\)72262-5](https://doi.org/10.1016/S1405-7743(13)72262-5).
83. Gold-Bouchot, G.; Ceja-Moreno, V.; Chan-Cocom, E.; Zapata-Perez, O. Petroleum hydrocarbons, fluorescent aromatic compounds in fish bile and organochlorine pesticides from areas surrounding the spill of the Kab121 well, in the Southern Gulf of Mexico: A case study. *J. Environ. Biol.* **2013**, *35*, 147–156.
84. Chaichana, R.; Pouangcharean, S.; Yoonphand, R. Habitat, abundance, and diet of invasive suckermouth armored catfish (Loricariidae *Pterygoplichthys*) in the Nong Yai Canal, East Thailand. *Trop. Zool.* **2011**, *24*, 49.
85. Lujan, N.K.; Winemiller, K.O.; Armbruster, J.W. Trophic diversity in the evolution and community assembly of loricariid catfishes. *BMC Evol. Biol.* **2012**, *12*, 124. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-12-124>.
86. Weber, P.; Behr, E.R.; Knorr, C.D.L.; Vendruscolo, D.S.; Flore, E.M.; Dressler, V.L.; Baldisserotto, B. Metals in the water, sediment, and tissues of two fish species from different trophic levels in a subtropical Brazilian river. *Microchem. J.* **2013**, *106*, 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.05.004>.
87. Salcedo, M.A.; Sánchez, A.J.; De la Lanza, G.; Kamplicher, C.; Florido, R. Condición ecológica del humedal tropical Pantanos de Centla. In *Recursos Acuáticos Costeros del Sureste, V-II*; Sánchez, A.J., Chaparra-Carrara, X., Pérez, R.B., Eds.; FOMIX CONACYT: Yucatán, México, 2012, pp. 112–136.
88. Cardoso-Mohedano, J.G.; Canales-Delgadillo, J.C.; Machain-Castillo, M.L.; Sanchez-Muñoz, W.N.; Sanchez-Cabeza, J.A.; Esqueda-Lara, K.; Gómez-



- Ponce, M.A.; Ruiz-Fernández, A.C.; Alonso-Rodríguez, R.; Lestay-González, J.A.; et al. Contrasting nutrient distributions during dry and rainy seasons in coastal waters of the southern Gulf of Mexico driven by the Grijalva-Usumacinta River discharges. *Mar. Pollut. Bull.* **2022**, *178*, 113584. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113584>.
89. Rahman, M.S.; Thomas, P. Effects of hypoxia exposure on hepatic cytochrome P450 1A (CYP1A) expression in Atlantic croaker: Molecular mechanisms of CYP1A down-regulation. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e40825. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040825>.
90. Dasgupta, S.; DiGiulio, R.T.; Drollette, B.D.; Plata, D.L.; Brownawell, B.J.; McElroy, A.E. Hypoxia depresses CYP1A induction and enhances DNA damage but has minimal effects on antioxidant responses in sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*) larvae exposed to dispersed crude oil. *Aquat. Toxicol.* **2016**, *177*, 250–260. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.05.022>.
91. Rahman, M.S.; Thomas, P. Interactive effects of hypoxia and PCB co-exposure on expression of CYP1A and its potential regulators in Atlantic croaker liver. *Environ. Toxicol.* **2018**, *33*, 411–421. <https://doi.org/10.1002/tox.22527>.
92. Span, P.N.; Bussink, J. Biology of hypoxia. *Semin. Nucl. Med.* **2015**, *45*, 101–109. <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2014.10.002>.
93. Hale, S.S.; Cicchetti, G.; Deacutis, C.F. Eutrophication and hypoxia diminish ecosystem functions of benthic communities in a New England estuary. *Front. Mar. Sci.* **2016**, *3*, 249. <https://doi.org/10.3389/fmars.2016.00249>.
94. Hwang, S.J. Eutrophication and the ecological health risk. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2020**, *17*, 6332. <https://doi.org/10.3390/ijerph17176332>.
95. Esqueda-Lara, K.; Sánchez, A.D.J.; Valdés-Lagunes, G.; Salcedo, M.A.; Franco-Torres, A.E.; Florido, R. Fitoplancton en el humedal tropical Chaschoc en la cuenca baja del río Usumacinta. *Rev. Mex. Biodivers.* **2016**, *87*, 1177–1188.
96. Salcedo-Garduño, M.G.; Galaviz-Villa, I.; Pérez-Vázquez, A. Determining water quality of the lower basin of the Usumacinta River in Tabasco, Mexico: *Agro Product.* **2022**, *15*, 23–31. <https://doi.org/10.32854/agrop.v15i8.2205>.



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
México

CAPITULO III.

**NIVEL DE EXPRESIÓN DE GENES ASOCIADOS
CON EL ESTRÉS AMBIENTAL EN MANATÍES DEL
SUR DEL GOLFO DE MÉXICO Y EL CARIBE**



Nombre del artículo: Nivel de expresión de genes asociados con el estrés ambiental en manatíes del sur del golfo de México y el Caribe.

Autores: Guadalupe Gómez-Carrasco¹, Julia María Leshher-Gordillo^{1*}, León David Olivera-Gómez^{1*}, Benjamín Morales-Vela², Salima Machkour-M'Rabet³, Erick De la Cruz-Hernández⁴, Darwin Jiménez-Domínguez¹

Resumen: El manatí, *Trichechus manatus manatus*, es una especie en peligro de extinción. El objetivo de este trabajo fue determinar los niveles de expresión de los genes relacionados con el metabolismo de los xenobióticos en tres poblaciones de manatíes bajo diferentes condiciones ambientales en México. Se aisló el ARN de 21 muestras de tejido (hígado, piel y sangre), que posteriormente se convirtieron en ADNc. Se utilizó qPCR para analizar los genes de interés *MT2*, *CYP1A1*, *ARNT* y *GSTP1-1*. Entre la expresión diferencial de los genes de interés, solo en *MT2* se observaron variaciones significativas entre los sitios de muestreo del Golfo de México y el Caribe ($p=0,033$). Estos genes pueden utilizarse como biomarcadores para el monitoreo ambiental durante las evaluaciones de salud de los manatíes o en contingencias ambientales que impliquen una mortalidad desconocida de estos organismos.

Palabras clave: *Trichechus manatus manatus*, qPCR, expresión génica, desintoxicación celular, biomarcadores moleculares.

Institución de adscripción de cada autor: ¹ Centro de Investigación Para la Conservación y El Aprovechamiento de los Recursos Tropicales (CICART), División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carretera Villahermosa-Cárdenas Km 0.5 S/N, Ranchería Emiliano Zapata, Villahermosa 86150, Tabasco, Mexico ORCID GGC 0000-0001-6943-9204, ORCID JMLG 0000-0001-6973-2304, ORCID LDOG 0000-0002-8919-3835, ORCID DJD 0000-0002-2267-9953

² El Colegio de la Frontera Sur, Avenida del Centenario km 5.5, Chetumal 77014, Quintana Roo, Mexico ORCID 0000-0002-4153-0417

³ Departamento de Conservación de la Biodiversidad, El Colegio de la Frontera Sur, Avenida del Centenario km 5.5, Chetumal 77014, Quintana Roo, Mexico, ORCID 0000-0002-9505-3900

⁴ Laboratorio de Investigación en Enfermedades Metabólicas e Infecciosas, División Académica Multidisciplinaria de Comalcalco, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Ranchería Sur Cuarta Sección, Comalcalco City 86650, Tabasco, Mexico ORCID 0000-0001-5236-7347

* Corresponding authors: J. M. Leshher-Gordillo: julialesher1@gmail.com L. D. Olivera-Gómez: leon_olivera@yahoo.com.mx

Artículo enviado a: Scientific reports.

Nombre de la editorial: Springer Nature.

Fecha de envío de la publicación: marzo de 2026.



Nivel de expresión de genes asociados con el estrés ambiental en manatíes del sur del Golfo de México y el Caribe

Guadalupe Gómez-Carrasco¹, Julia María Leshner-Gordillo^{1*}, León David Olivera-Gómez^{1*}, Benjamín Morales-Vela², Salima Machkour-M'Rabet³, Erick De la Cruz-Hernández⁴, Darwin Jiménez-Domínguez¹

¹ Centro de Investigación Para la Conservación y El Aprovechamiento de los Recursos Tropicales (CICART), División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carretera Villahermosa-Cárdenas Km 0.5 S/N, Ranchería Emiliano Zapata, Villahermosa 86150, Tabasco, Mexico ORCID GGC 0000-0001-6943-9204, ORCID JMLG 0000-0001-6973-2304, ORCID LDOG 0000-0002-8919-3835, ORCID DJD 0000-0002-2267-9953

² El Colegio de la Frontera Sur, Avenida del Centenario km 5.5, Chetumal 77014, Quintana Roo, Mexico ORCID 0000-0002-4153-0417

³ Departamento de Conservación de la Biodiversidad, El Colegio de la Frontera Sur, Avenida del Centenario km 5.5, Chetumal 77014, Quintana Roo, Mexico, ORCID 0000-0002-9505-3900

⁴ Laboratorio de Investigación en Enfermedades Metabólicas e Infecciosas, División Académica Multidisciplinaria de Comalcalco, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Ranchería Sur Cuarta Sección, Comalcalco City 86650, Tabasco, Mexico ORCID 0000-0001-5236-7347

* Corresponding authors: J. M. Leshner-Gordillo: julialesher1@gmail.com L. D. Olivera-Gómez: leon_olivera@yahoo.com.mx

Resumen

El manatí, *Trichechus manatus manatus*, es una especie en peligro de extinción. El objetivo de este trabajo fue determinar los niveles de expresión de los genes relacionados con el metabolismo de los xenobióticos en tres poblaciones de manatíes bajo diferentes condiciones ambientales en México. Se aisló el ARN de 21 muestras de tejido (hígado, piel y sangre), que posteriormente se convirtieron en ADNc. Se utilizó qPCR para analizar los genes de interés *MT2*, *CYP1A1*, *ARNT* y *GSTP1-1*. Entre la expresión diferencial de los genes de interés, solo en *MT2* se observaron variaciones significativas entre los sitios de muestreo del Golfo de México y el Caribe ($p=0,033$). Estos genes pueden utilizarse como biomarcadores



para el monitoreo ambiental durante las evaluaciones de salud de los manatíes o en contingencias ambientales que impliquen una mortalidad desconocida de estos organismos.

Palabras clave: *Trichechus manatus manatus*, qPCR, expresión génica, desintoxicación celular, biomarcadores moleculares.

Introducción

El manatí Antillano, *Trichechus manatus*, es un mamífero acuático totalmente herbívoro, perteneciente al orden Sirenia [1]. La subespecie manatí del Gran Caribe, *Trichechus manatus manatus*, habita las costas y llanuras costeras de las regiones del Golfo y el Caribe de México. Esta subespecie está en peligro de extinción de acuerdo con la Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) [2]. En México Desde 1922, los manatíes están protegidos [3] y es considerada una especie de conservación prioritaria.

La contaminación del hábitat es uno de los factores de riesgo para las poblaciones de manatíes en México. La exposición crónica a diferentes tipos de contaminantes compromete su salud, tal y como se ha informado para el manatí de Florida [4]. En el Golfo de México, la cuenca baja de los ríos Grijalva-Usumacinta, se considera la región con mayor abundancia de manatíes [5], y se caracteriza por el uso generalizado de agroquímicos en extensas regiones de cultivos [6] y por una alta actividad petrolera [7]. Del mismo modo, el vertido de aguas negras que no han sido tratadas contribuye negativamente a la calidad del entorno [8]. En 2018 ocurrió un evento inusual de mortandad de manatíes en distintos sitios del río Grijalva que fue considerado de emergencia nacional por el número de manatíes muertos (9), las causas se asociaron a explosiones dañinas algales por eutroficación del agua, pero sin ser estas pruebas concluyentes [9].



La costa caribeña de México, incluida la bahía de Chetumal (ChB), alberga otra gran población de manatíes [10]. En el sur de Quintana Roo, el cultivo de caña de azúcar y las descargas de aguas residuales representan fuentes potenciales de metales pesados como Mercurio (Hg), Cadmio (Cd), Hierro (Fe) y Cobre (Cu) [11, 12] en la ChB. Relacionado con lo anterior investigaciones previas [13] reportaron mayores concentraciones de metales pesados en huesos de manatíes del Golfo de México en comparación con los manatíes de ChB. No obstante, las concentraciones generales de metales pesados en este estudio superaron los registros de otras especies de mamíferos marinos. Estos hallazgos confirman que la ChB no está exenta de contaminación, lo que vulnera la salud de los manatíes expuestos a estos tóxicos.

Tradicionalmente, el monitoreo de la contaminación en la fauna silvestre se ha llevado a cabo principalmente mediante análisis químicos [14], aunque este tipo de análisis son insustituibles, una de las limitaciones de su uso es la falta de capacidad predictiva para vincular los datos obtenidos con el estado de salud de los organismos y las poblaciones [14,15]. En este contexto, los análisis moleculares son una importante herramienta para detectar las rutas metabólicas alteradas a consecuencia de estresores ambientales [16]. Los estudios a nivel de transcriptómica son abordados para evaluar la respuesta genética de los organismos a los cambios ambientales [17]. Los avances en las ciencias ómicas han permitido ahora incluir en estas evaluaciones especies no modelo, como los grandes mamíferos marinos [18]. Por ejemplo, se han aplicado con éxito estudios transcriptómicos y ensayos de expresión génica específicos para evaluar el impacto fisiológico de los factores de estrés antropogénicos en especies como la ballena minke común (*Balaenoptera acutorostrata*) [19], las orcas (*Orcinus orca*) [20] y las nutrias marinas (*Enhydra lutris*) [21]. Se han documentado estudios de este tipo en la subespecie *Trichechus manatus latirostris* [22], en los que se analizó la expresión génica diferencial en un grupo de manatíes rescatados de una zona afectada por la marea roja. Sus resultados mostraron que los cambios en la expresión génica relacionados con la respuesta inmunitaria, los procesos neurodegenerativos y la



inflamación fueron las observaciones más notables. Este estudio contribuyó con una mejor comprensión de la respuesta inmunitaria de los manatíes a las toxinas de la marea y contribuye al diseño de biomarcadores. Sin embargo, la subespecie *Trichechus manatus manatus* carece de estudios de expresión génica, por lo que es fundamental llevar a cabo este tipo de investigaciones.

Las alteraciones en los niveles de transcripción genética pueden indicar los primeros signos visibles de deterioro de la salud [21]. Estos estudios proporcionan un marco para monitorear los efectos de niveles subletales de contaminantes y facilitar la evaluación de la salud del ecosistema [23]. La expresión genética asociada con la desintoxicación celular puede ser un instrumento valioso para descifrar la respuesta genética de los organismos a diferentes tipos de factores de estrés ambientales y antropogénicos.

Los genes diana evaluados en esta investigación, *MT2*, *CYP1A1*, *ARNT* y *GSTP1-1*, son esenciales para mediar la desintoxicación celular, el metabolismo xenobiótico y la eliminación de metales pesados [24-26].

El gen *MT2* pertenece al grupo de las metalotioneínas (*MT*), un conjunto de enzimas que intervienen en la desintoxicación de metales pesados (cadmio, mercurio, plomo) y en la protección contra la toxicidad de los metales [27-29]. Las enzimas del gen *CYP1A1* son responsables de eliminar y neutralizar pesticidas, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) y derivados del petróleo, [30-32]. La inducción de la expresión de *CYP1A1* sirve como biomarcador de toxicidad en especies animales [33]. El gen *ARNT* (Translocador nuclear del receptor de hidrocarburos arílicos) pertenece a la familia de las proteínas reguladoras de la transcripción [34]. El gen *ARNT* desempeña un papel clave en la cascada de señalización del metabolismo xenobiótico, trabajando en conjunto con los genes *CYP* [34,35] y en la vía de señalización de la hipoxia [36-38]. Por último, las enzimas de la Glutatión S-transferasa (*GST*) participan en el metabolismo de los xenobióticos y en la eliminación de sustancias nocivas para la célula, en la fase II de la



biotransformación de los xenobióticos [35]. *GSTP1-1* se sobreexpresa en los eritrocitos humanos en casos de mayor toxicidad sanguínea [39,40]. Se ha propuesto a *GSTP1-1* como biomarcador en humanos, que puede indicar una exposición prolongada a la contaminación ambiental, y se ha planteado la hipótesis de que puede funcionar de manera similar en otros mamíferos [35,40,41].

La relevancia de monitorear la expresión de los genes implicados en el proceso de desintoxicación celular reside en el hecho de que algunos xenobióticos pueden ser tóxicos para el organismo si no se metabolizan correctamente [42] y, por lo tanto, pueden alterar funciones fisiológicas importantes. Este tipo de análisis ayuda a comprender el estado de salud de los organismos y los ecosistemas.

El objetivo de esta investigación fue determinar los patrones de expresión de los genes asociados con el metabolismo de los xenobióticos *MT2*, *CYP1A1*, *ARNT* y *GSTP1-1* en poblaciones de *Trichechus manatus manatus* bajo diferentes condiciones ambientales y de estrés en México. Los resultados de esta investigación ayudarán a mejorar nuestra comprensión de cómo responden los manatíes a factores de estrés ambiental específicos. También pueden proporcionar información relevante para el diseño y la implementación de estrategias para mitigar el impacto de los contaminantes en la salud de los manatíes.

Resultados

Se obtuvo ARN de buena calidad. Los valores de rendimiento de la relación de absorbancia 260/280 $\geq 1,9$, indicaron que se obtuvieron muestras de ARN de alta pureza. La integridad del ARN se confirmó con electroforesis en gel de agarosa.

Eficiencia y especificidad de la amplificación

Se obtuvo una sola banda de longitud esperada del amplicón (Figura III-1). El análisis de la curva de fusión también indicó un solo pico, lo que sugiere la ausencia



de formación de dímeros de cebador. El control sin molde de ADN no mostró ninguna señal detectable. El porcentaje de eficiencia de amplificación osciló entre el 97,04 % (*ACTB*) y el 107,50 % (*MT2*); los coeficientes de correlación oscilaron entre 0,995 (*GSTP1-1*) y 0,999 (*ACTB* y *ARNT*) (Tabla III-1).



Figura III-1. Gel de agarosa (2%) de productos amplificados por PCR para *GAPDH* y *ACTB*, los genes de referencia candidatos. Escalera de ADN (DNA Ladder) de 100 pb como referencia.

Estabilidad de la expresión de los genes de referencia candidatos

La combinación de los genes de referencia *GAPDH* y *ACTB* fue la forma más estable en los diferentes métodos utilizados, en comparación con el uso de genes individuales (Tabla III-2). El análisis RefFinder arrojó resultados casi consistentes con las clasificaciones ΔC_t , BestKeeper y NormFinder, lo que demuestra que los genes de referencia presentan un nivel de expresión estable en las muestras analizadas. En este análisis, el valor Geomean más bajo se obtuvo en el conjunto de datos combinado de *GAPDH* y *ACTB* (Tabla III-2).



Validación de la estabilidad de la expresión relativa de los genes de interés

La estabilidad de los genes diana (*MT2*, *CYP1A1*, *ARNT* y *GSTP1-1*) se validó normalizándolos con respecto a la combinación de genes de referencia *GAPDH* y *ACTB* (Figura III-2), que se identificó como la más estable en todos los métodos analizados.

Expresión relativa de los genes de interés

Al comparar la expresión génica diferencial entre los sitios de estudio (Figura III-2), observamos que solo el gen *MT2* mostraba diferencias significativas ($F= 4.69$, $df= 2$, $p= 0.023$) con valores más altos en el sitio GRB. Las comparaciones por pares mostraron diferencias entre los sitios GRB y ChB ($p= 0.033$), mientras que no se observaron diferencias entre los individuos de ChB y los de cautiverio. La comparación entre los tejidos muestreados (Figura III-3) muestra una diferencia significativa ($F= 14.89$, $df= 2$, $p < 0.000153$) para el gen *MT2*, con un valor más alto para las muestras de hígado (prueba por pares: hígado frente a capas leucocitarias, $p= 0.001$; hígado frente a piel, $p= 0.003$). Los valores atípicos en las muestras redujeron las diferencias estadísticas en genes concretos; por ejemplo, en *CYP1A1*, el efecto de los tejidos se acercó al criterio de rechazo ($F= 3.32$, $df= 2$, $p= 0.059$). Se observó cierta tendencia en *CYP1A1* tanto para los efectos del lugar como para los del tejido (Figuras III- 2 y III-3).

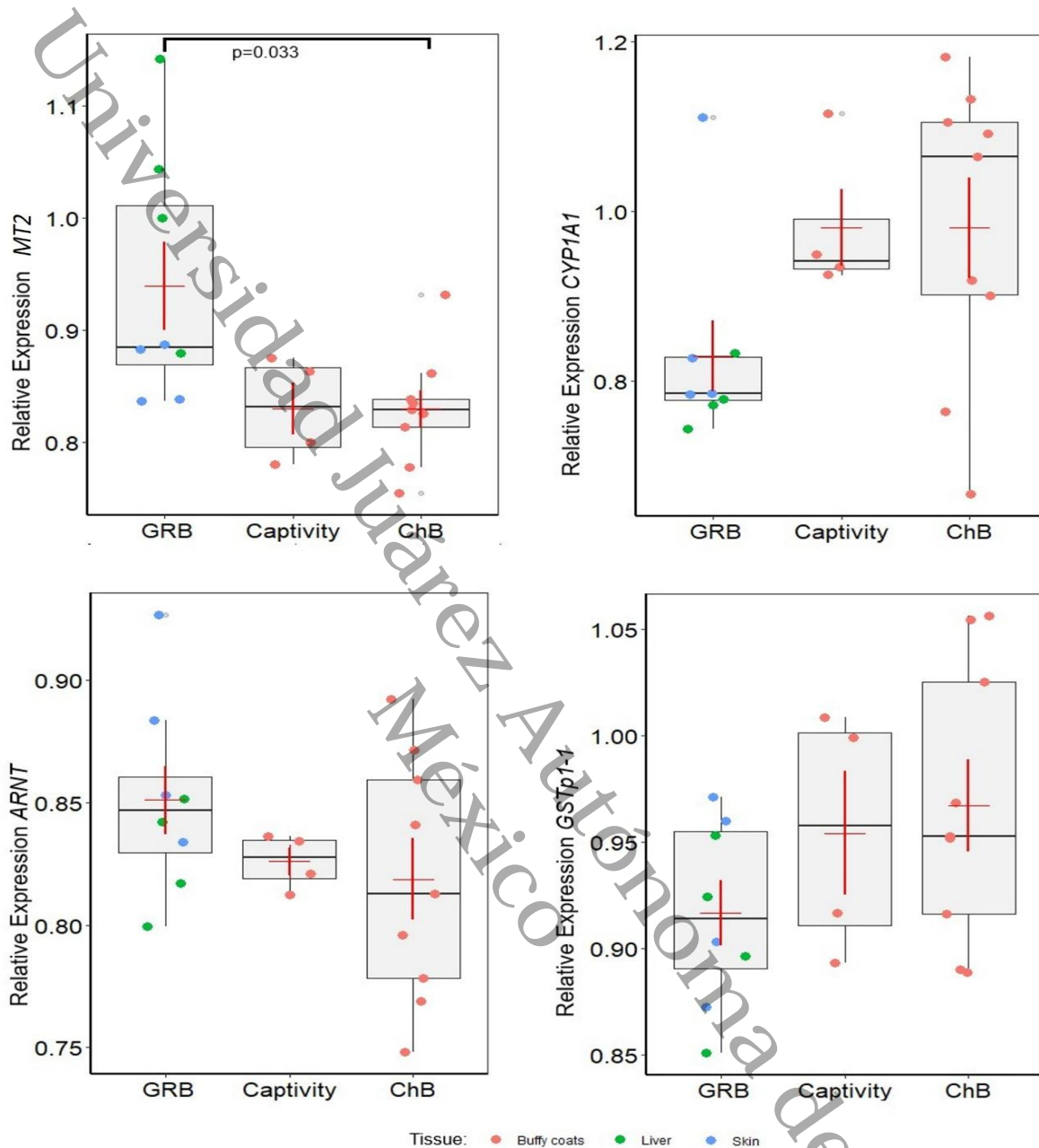


Figura III-2. Representación en diagrama de caja de los niveles de expresión relativa de los genes *MT2*, *CYP1A1*, *ARNT* y *GSTP1-1* para *Trichechus manatus manatus* entre los sitios de muestreo. La normalización se realizó con respecto a combinaciones de los genes *GAPDH* y *ACTB*. Los valores p corresponden a una prueba t por pares, utilizando el ajuste de Bonferroni. Sitios de muestreo: GRB: sitio de la cuenca del Grijalva, ChB: bahía de Chetumal, el cautiverio corresponde al centro de rehabilitación UJAT. Los colores de los puntos se refieren a los tejidos muestreados: rojo (capas leucocitarias); verde (hígado); azul (piel).

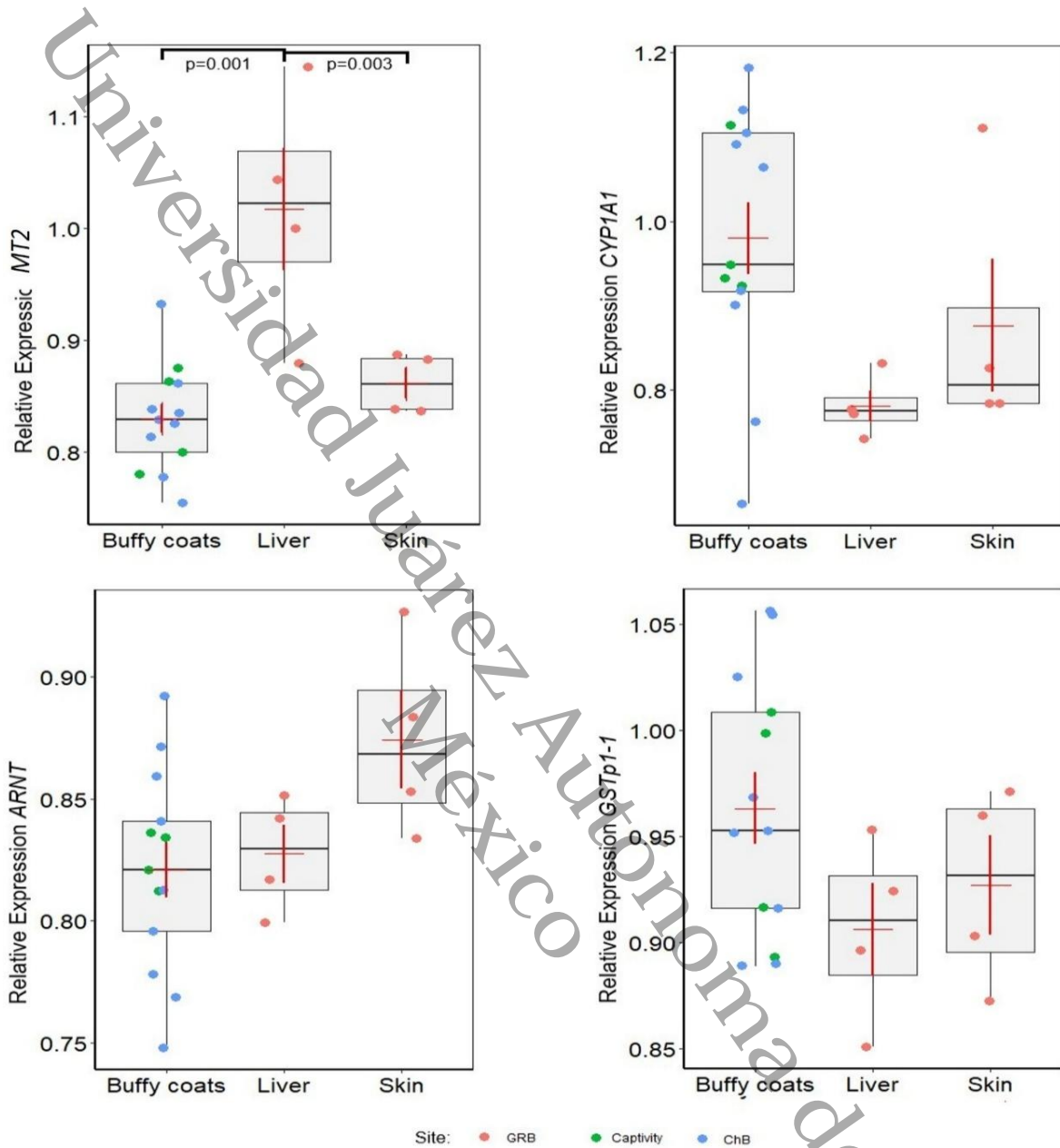


Figura III-3. Representación en diagrama de caja de los niveles de expresión relativa de los genes *MT2*, *CYP1A*, *ARNT* y *GSTP1-1* para diferentes muestras de tejido de *Trichechus m. manatus*. La normalización se realizó con respecto a combinaciones de los genes *GAPDH* y *ACTB*. Los valores p corresponden a una prueba t por pares, utilizando el ajuste de Bonferroni. Tejidos: capas leucocitarias; hígado y piel. El color de los puntos se refiere a los lugares de muestreo: rojo (cuena del Grijalva); verde (centro de rehabilitación de la UJAT); azul (bahía de Chetumal). El cautiverio corresponde al centro de rehabilitación de la UJAT.



Discusión

Diversos contaminantes amenazan a las poblaciones de manatíes en toda su distribución, pero los efectos de estos contaminantes sobre la salud de los manatíes no se han documentado suficientemente [43]. Este estudio analizó, por primera vez en manatíes, la expresión diferencial de cuatro genes de interés (*MT2*, *CYP1A1*, *ARNT* y *GSTP1-1*) asociados con la desintoxicación celular y la respuesta a factores de estrés ambiental, como los metales pesados, los hidrocarburos aromáticos policíclicos, y los agroquímicos, en las poblaciones de manatíes del Gran Caribe en México.

Expresión del gen *MT2*, asociado con la exposición a metales pesados

La diferencia significativa observada en *MT2* entre los sitios del Golfo de México (GRB) y el Mar Caribe (ChB) pone de relieve una mayor exposición a los metales pesados en el Golfo de México, lo que se correlaciona con los informes sobre estos contaminantes en esta región [44]. Los resultados de los animales en cautiverio tampoco fueron significativos, esto se puede deber a que, a pesar de ser del Golfo de México, se utiliza agua potable para el llenado de sus albercas. Las *MT*, incluida la *MT2*, se han utilizado como biomarcadores de la exposición a metales pesados [45]. Estudios anteriores han demostrado que el estrés por metales pesados es un buen inductor de los *MT* [46]. La mayor expresión de *MT2* se registró en el grupo GRB, predominantemente en muestras de hígado. En comparación con el presente estudio, en los ratones de campo (*Clethrionomys glareolus*) el análisis de la expresión génica de *MT1* y *MT2* en sus hígados, mostró alta expresión en las poblaciones consideradas más contaminadas [46,47]. De manera similar, en orcas (*Orcinus orca*) se observaron valores significativos en la expresión del gen *MT1* en biopsias de tejido adiposo [20].

En el caso de la expresión del gen *MT2* en ChB los resultados fueron bajos e insignificantes. Para este grupo, se emplearon muestras de sangre, que, según



informes en humanos, se correlacionan directamente con la expresión de *MT* en tejidos de ratas y ratones [48]. Estos resultados en ChB pueden estar relacionados con el menor nivel de contaminación por metales pesados observado en los huesos de manatíes de esta región [13], lo que concuerda con los resultados de los análisis de expresión del gen *MT* en lugares con menores niveles de contaminación [47].

Expresión del gen *CYP1A1*, asociado con la exposición a HAPs y agroquímicos

Cuando se analizó la expresión del gen *CYP1A1*, no se observaron diferencias significativas entre los sitios de estudio. El grupo ChB y el grupo en cautiverio mostraron una tendencia similar. Se considera que estos sitios tienen niveles de contaminación más bajos en comparación con GRB. Estos resultados son similares a los reportados en delfines (*Stenella coeruleoalba*), donde no se reportaron diferencias significativas en el gen *CYP1A1* en animales pertenecientes a sitios menos contaminados [49]. Sin embargo, cabe mencionar que se esperaba encontrar altos niveles de expresión de este gen en GRB, debido a la influencia de la industria petrolera en esta región [7], lo que no se observó. La disminución de la expresión del gen *CYP1A1* se ha correlacionado con daño hepático en ratas [50]. En relación con esto, los análisis post mortem realizados en manatíes GRB revelaron daño hepático [51]. Por consiguiente, es probable que la baja expresión de *CYP1A1* en GRB se deba a lesiones en los hígados analizados. De manera similar, en otros mamíferos marinos, como las ballenas (*Balaenoptera acutorostrata*), también se informó que la expresión de *CYP1A1* y *CYP1A2* en el hígado no mostraba diferencias significativas en relación con la concentración de compuestos organoclorados [19]. Además, también se han descrito niveles bajos de expresión del gen *CYP1A1* relacionados con los efectos antagónicos de los bifenilos policlorados (PCB) en fibroblastos de orcas (*Orcinus orcas*) expuestas a una mezcla de contaminantes persistentes [52]. Otros estudios en grasa de la falsa orca (*Pseudorca crassidens*) han sugerido que los niveles de expresión del gen *CYP1A1* pueden verse suprimidos en organismos más contaminados [53]. Teniendo en cuenta lo anterior, es probable que la disminución de la expresión del



CYP1A1 observada en el GRB esté mediada por una mezcla de contaminantes orgánicos persistentes y reduzca la capacidad de los manatíes para eliminar los hidrocarburos aromáticos policíclicos. En consecuencia, esto es motivo de preocupación para esta población de manatíes, que probablemente tiene una capacidad reducida para detoxificar este tipo de contaminantes ambientales.

Expresión del gen *ARNT*, asociación con la hipoxia y la correlación con *CYP1A1*

En cuanto a los resultados del gen *ARNT*, no se identificaron diferencias significativas en ninguno de los sitios evaluados. Sin embargo, en GRB se observó una ligera tendencia de correlación negativa en relación con la expresión de *CYP1A1* (aumento de *ARNT* y disminución de *CYP1A1*), en contraste con lo observado en ChB y en cautividad. Se obtuvieron resultados similares sobre esta correlación negativa en focas (*Pusa sibirica*), donde se evaluaron los genes *AHR*, *ARNT* y *CYP1A1* en una zona contaminada con hidrocarburos aromáticos halogenados planos [54].

Normalmente, el gen *ARNT* se une al receptor de hidrocarburos arílicos (*AHR*) cuando se detectan xenobióticos, y este complejo activa la transcripción de una variedad de genes diana, incluidos los genes *CYP1A1* [55]. El gen *ARNT* también está asociado con el factor inducible por hipoxia (*HIF- α*), un regulador crucial de las respuestas a las condiciones de oxígeno reducido [54,56]. Por lo tanto, dado que el *ARNT* es un factor de unión importante para dos vías: los xenobióticos y la hipoxia, la exposición a un estímulo puede anular la respuesta biológica al otro, por ejemplo, la respuesta a los xenobióticos puede verse alterada en condiciones de hipoxia fisiológica [56]. En situaciones de hipoxia, la formación del complejo *HIF- α -ARNT* activa la transcripción de genes de respuesta al bajo nivel de oxígeno, lo que induce un aumento de la expresión del gen *ARNT* [34]. El gen *ARNT*, en eventos de hipoxia elevada, puede disminuir la expresión del gen *CYP1A1*, estudios en otros mamíferos han demostrado que la hipoxia disminuye la expresión de las proteínas y el ARNm de los genes *CYP1A1* y *CYP1A2* [57,58]. De acuerdo con lo anterior, la



tendencia observada en la población GRB sobre los genes *ARNT* y *CYP1A1* apunta a una represión transcripcional de esta vía metabólica. Se postula que un aumento de los niveles de hipoxia podría estar desplazando la actividad del sistema, priorizando la respuesta al estrés por privación de oxígeno sobre la desintoxicación química. Aunque la vía metabólica de la hipoxia y el receptor *AHR* no se evaluaron en este estudio, los resultados preliminares sugieren la relevancia de evaluar su interacción molecular en futuras investigaciones para aclarar los mecanismos de adaptación observados.

Expresión del gen *GSTP1-1*

En relación con los resultados globales del gen *GSTP1-1*, no se observaron diferencias significativas, por lo que no es posible argumentar sobre las posibles implicaciones de estos resultados en las poblaciones evaluadas; sin embargo, en este gen se observó una mayor expresión en ChB y en cautividad, mientras que en GRB fue ligeramente inferior. Esta mayor expresión en los niveles de expresión de *GSTP1-1* se correlaciona con la expresión de *CYP1A1* en estos grupos, ya que estos genes forman parte de las vías de biotransformación de fase I (*CYP1A1*) y fase II (*GSTP1-1*), en las que las enzimas desintoxican los metabolitos reactivos producidos durante la fase I, convirtiendo los reactivos en una forma hidrófila para obtener compuestos inactivos solubles en agua y facilitar así su excreción [35].

Validación de los Genes de referencia en esta investigación

Además, en este estudio se validaron los genes de referencia *GAPDH* y *ACTB* para la subespecie *Trichechus manatus manatus*, estos genes se utilizan con frecuencia en los análisis de qPCR para normalizar los genes diana [59]. En algunos estudios sobre mamíferos marinos, estos genes de referencia se han utilizado para normalizar los niveles de expresión, por ejemplo, en las orcas, *Orcinus orca* [20], y también se han utilizado en el manatí de Florida, *Trichechus manatus latirostris* [60]. En consonancia con las investigaciones previas [61], los resultados de este trabajo



demuestran que el uso combinado de los dos genes de referencia *GAPDH* y *ACTB* ofrece una mayor estabilidad de expresión que su uso individual, independientemente del método de análisis aplicado.

Por último, se recomienda el uso de un conjunto uniforme de tejidos en futuras investigaciones para garantizar la coherencia y comparabilidad de los resultados. Se recomienda el uso de muestras de sangre debido a la estabilidad de este tipo de muestra observada en este estudio. Una de las ventajas de utilizar sangre en los análisis de expresión génica es que la sangre se desplaza en todo el cuerpo por medio del sistema circulatorio, lo que implica una amplia gama de sistemas que pueden utilizarse en la investigación, como la respuesta al estrés [62]. Además, la evaluación de la expresión genética por medio de sangre se ha documentado como una herramienta eficaz para detectar la hepatotoxicidad inducida por agentes químicos hepatotóxicos convencionales [63].

Implicaciones para la conservación

Los estudios de expresión génica proporcionan información sobre el ambiente y la respuesta fisiológica de los organismos [64]. Las diferentes respuestas de los genes analizados en este estudio reflejan los diversos escenarios de contaminación a los que están expuestos los manatíes en los sitios de muestreo y las implicaciones para su salud, particularmente en la GRB. Asimismo, se recomienda el uso de estos genes como biomarcadores para el monitoreo ambiental durante evaluaciones de salud o en contingencias ambientales que impliquen una mortalidad desconocida de organismos. Los resultados de esta investigación indican que este enfoque molecular aplicado a muestras de tejidos es una eficaz herramienta de diagnóstico para evaluar el impacto ecotoxicológico en las poblaciones de *Trichechus manatus manatus*.



Métodos

Se tomaron 21 muestras de sangre y tejido de manatíes en libertad y cautivos en el sur del Golfo de México (Figura III-4). De este total, (1) ocho biopsias de tejido corresponden a manatíes silvestres que murieron en un evento contingencia ambiental [9] en la subcuenca del río Grijalva (GRB). Las muestras se conservaron en ARNlater a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ para su posterior análisis. Las muestras de sangre de manatíes vivos se recolectaron mediante venopunción del plexo braquial, entre el radio y la articulación del codo [65], utilizando una aguja Vacutainer®. La sangre se recolectó en un tubo Tempus [66] con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) para preservar el ARN. (2) Se recolectaron nueve muestras de sangre de manatíes silvestres de la Bahía de Chetumal (ChB) en Quintana Roo. (3) Finalmente, se recolectaron cuatro muestras de sangre de animales cautivos de un centro de rehabilitación ubicado en DACBIOL-UJAT en Tabasco, México, durante las evaluaciones periódicas de salud realizadas por el personal del sitio. Estos últimos ejemplares nacieron en libertad en el sur del Golfo de México y fueron rescatados huérfanos. Al momento de la recolección de sangre, estos animales llevaban más de un año en cautiverio y se les identificó como clínicamente sanos.

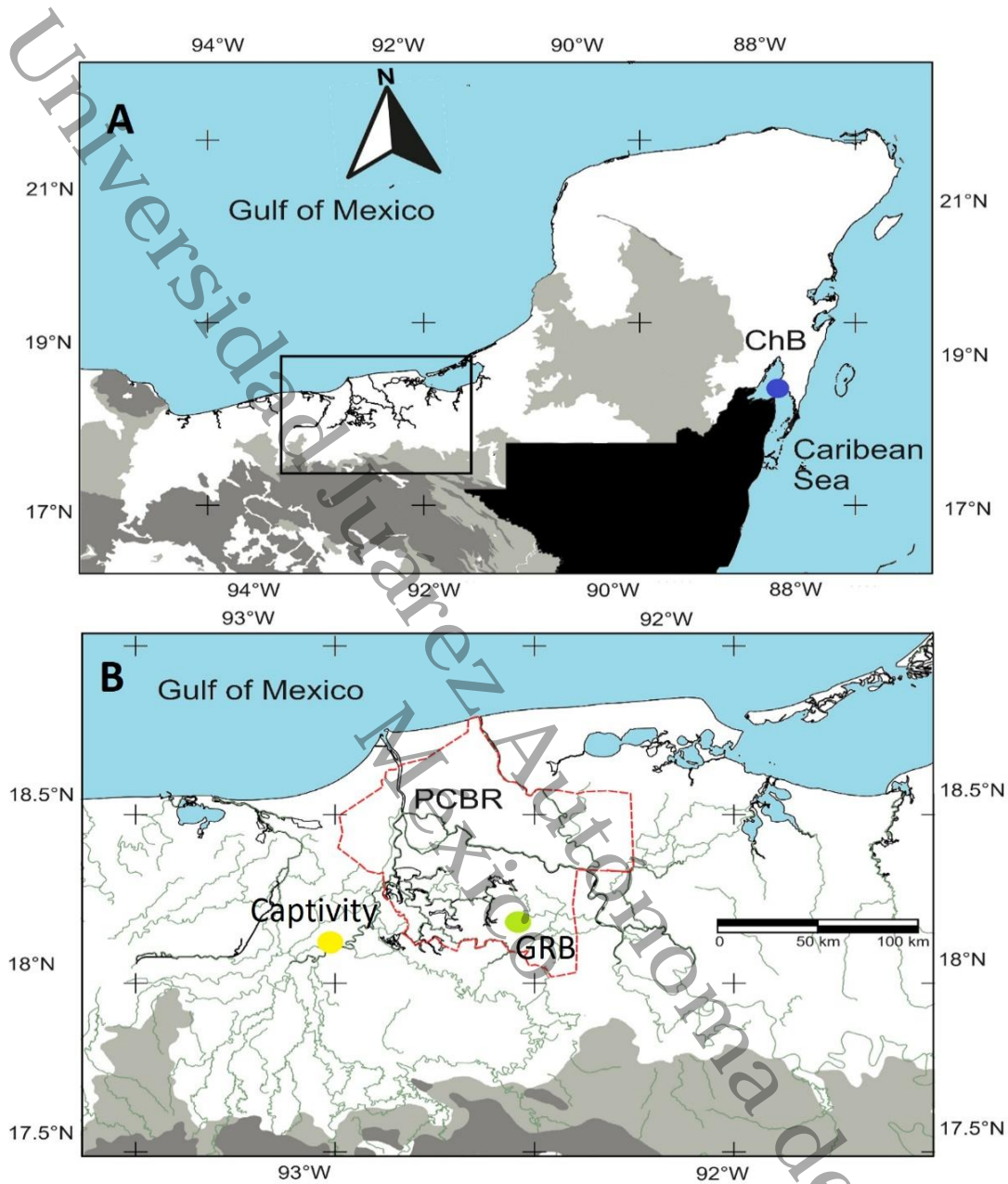


Figura III-4. Mapa de los sitios de muestreo de manatíes en esta investigación. A) Representa los sitios de estudio en el sur del Golfo de México y el Mar Caribe frente a México; el círculo azul corresponde a la Bahía de Chetumal (ChB) en el estado de Quintana Roo. B) Representando el sur del Golfo de México, en el estado de Tabasco, la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla (RBPC) está delineada con líneas punteadas rojas. El círculo verde muestra el sitio de muestreo en la cuenca baja del río Grijalva (GRB), y el círculo amarillo muestra el grupo de manatíes en cautiverio procedentes del Golfo de México.



Aislamiento de ARN y síntesis de ADN complementario (ADNc)

Se aislaron células de la capa leucocitaria de muestras de sangre utilizando Lymphopred (Serumwerk, Bernburg, Alemania). Se utilizaron entre 50 y 100 mg de muestras de tejido (piel e hígado). El ARN total se aisló mediante el método de fenol/cloroformo [67]. El ADN genómico se eliminó mediante DNasa I (Thermo Scientific, Vilnius, Lituania). La pureza y la concentración del ARN se midieron con un espectrofotómetro Epoch (Agilent BioTek, Inc., Winooski, VT, EE. UU.) para determinar la absorbancia 260/280 ($DO A_{260}/A_{280} \geq 1,9$ nm). La transcripción inversa del ARN se realizó con el kit High-Capacity RNA-to-cDNA™ (Applied Biosystem, Foster City, CA, EE. UU.) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Selección de genes de referencia y diseño de oligonucleótidos

Tras una revisión bibliográfica, se seleccionaron *GAPDH* (Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa) y *ACTB* (Beta actina) [59] como genes de referencia, y se eligieron *MT2*, *CYP1A1*, *ARNT* y *GSTP1-1* (Tabla III-3) como genes de interés implicados en el proceso de desintoxicación celular. Para el diseño de los oligonucleótidos se utilizó Primer-Blast (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi>) del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) y el programa Primer3Plus v3.3.0 (<https://www.primer3plus.com/index.html>). Los oligonucleótidos se diseñaron con base en las secuencias codificantes reportadas para *Trichechus manatus latirostris* en el NCBI (Tabla III-3) y fueron sintetizados por Integrated DNA Technologies.

Expresión génica mediante PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR)

La expresión génica se evaluó utilizando el sistema de PCR en tiempo real StepOne™ (Applied Biosystems, Foster, CA, EE. UU.). Las reacciones de PCR se ejecutaron en un volumen total de 10 μ L: con 2 μ L de ADNc (500 ng), 5 μ L de 2x PowerUp SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems, Austin, TX, EE. UU.), 0.25



μL de cada cebador y $2.5 \mu\text{L}$ de agua libre de nucleasas (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MD, EE. UU.). Todas las muestras se analizaron por duplicado y se incluyó un control sin ADNc (NTC) para cada cebador para garantizar la ausencia de contaminación. Las condiciones de amplificación fueron 95°C durante 3 min, seguido de 40 ciclos de 95°C durante 10 s y 60°C durante 30 s. La especificidad de los productos de qPCR se confirmó y se verificó que no se habían amplificado dímeros de cebadores mediante un análisis de disociación (curva de Melt) y una electroforesis en un gel de agarosa ultrapura al 2% (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE. UU.), utilizando TAE1X, 100 pb DNA Ladder (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE. UU.), 10X Blue Juice (Invitrogen, EE. UU.) y bromuro de etidio (Invitrogen, EE. UU.) [68]Gungl et al. 2018. Además, se construyó una curva estándar para cada conjunto de oligonucleótidos para cumplir con los rangos recomendados por MIQE (The Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments) [69] utilizando una serie de diluciones de cinco veces de ADNc, y se calculó el coeficiente de correlación (r^2 , 0,98-1) y la eficiencia de amplificación (E%) entre el 85,0% y el 110% [70].

Estabilidad de los genes de referencia

La estabilidad de los genes de referencia se evaluó mediante tres algoritmos comunes: Delta Ct (ΔCt) [71], BestKeeper [72] y NormFinder [73]. Con el método ΔCt , el gen de referencia con la desviación estándar promedio más baja se considera más estable porque muestra una menor variación en la expresión entre muestras o condiciones. El índice BestKeeper se calculó utilizando una media geométrica de los valores del umbral de ciclo (Ct) de los posibles genes de referencia. En BestKeeper, se usó el valor r para clasificar los genes. Cuanto más cercano sea el valor r a uno, mayor será la estabilidad del gen. NormFinder utiliza un enfoque basado en modelos para estimar la variación en los datos de expresión génica. Este algoritmo calcula un valor de estabilidad para cada gen; un valor más bajo indica una expresión más estable en diferentes condiciones o grupos de muestras.



Se utilizó RefFinder para un análisis más robusto de la estabilidad de los genes [74]. En RefFinder, el valor más bajo de Geomean (media geométrica) indica que el gen se clasificó consistentemente como el más estable por todos o la mayoría de los algoritmos y es el candidato ideal para ser el gen de referencia. Los valores de Ct brutos se utilizaron directamente como entrada para los métodos empleados.

Validación del análisis de expresión utilizando genes de referencia seleccionados

Para evaluar la fiabilidad de los genes de referencia, se analizó cada gen por separado, así como la combinación de ambos. Estas combinaciones se utilizaron para normalizar la expresión de cuatro genes diana: *MT2*, *CYP1A1*, *ARNT* y *GSTP1-1*. Los datos de expresión génica se normalizaron y se expresaron como el cociente entre el Ct del gen de referencia y el del gen de interés [75]. Las diferencias en la expresión media de cada gen diana entre los sitios de muestreo y entre los tejidos se analizaron por separado debido a la colinealidad. Se realizó un ANOVA unidireccional tras las pruebas de normalidad y homocedasticidad. Se utilizó la prueba T de pares, con ajuste de Bonferroni, cuando el efecto principal fue significativo. Se utilizó el programa R para todos los análisis (versión 4.3.3) con software estándar y el paquete car. Para la representación gráfica se utilizó el paquete ggplot2.



Referencias

1. Reep, R.L, Bonde, R.K. The Florida Manatee: Biology and Conservation. 1-189 (University Press of Florida, (2006).
2. Morales-Vela, B., Quintana-Rizzo, E., Mignucci-Giannoni, A. *Trichechus manatus* ssp. *manatus*. The IUCN Red List of Threatened Species <https://www.iucnredlist.org/es/species/22103/43792740> (2024).
3. Official Gazette. *Diario oficial de la federación 19 de enero de 1922, secretaria de Agricultura y Fomento: PREVENCIÓNES reglamentarias estableciendo veda absoluta para la pesca del manatí en aguas federales.* https://www.dof.gob.mx/nota_to_imagen_fs.php?codnota=4445227&fecha=20/01/1922&cod_diario=187712 (1922).
4. De María, M. et al. Chronic exposure to glyphosate in Florida manatee. *Environ. Int.* **152**, 106493 (2021).
5. Olivera-Gómez, L.D., Jiménez-Domínguez, D., Morales-Vela, B., Herrera, J.L.G. Distribución espacial del manatí en la planicie costera del sur del Golfo de México. *ERA.* **9**, 25 (2022).
6. Córdova-Carrillo, A.E., Pérez-Sánchez, F., Rodríguez-Quevedo, N., Ovando-Hidalgo, C., Zequeira-Larios, C. Agroquímicos utilizados en la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla: Una afectación indirecta para el Cocodrilo de Pantano (*Crocodylus moreletii*). *Emerg. trends educ.* **17**, 3 (2010).
7. Solano-Palacios, E., Fruto-Cortés, M. Efectos de la actividad petrolera en el desarrollo regional de Tabasco y Campeche (1970-2008). In Bustamante-Lemus, C. Desarrollo regional de México. Hacia una agenda para su desarrollo económico y social con sustentabilidad, (pp.239-260). UNAM, UAA; AMECIDER, IIE-UNAM (2013).
8. Lázaro-Vázquez, A., Castillo, M.M., Jarquín-Sánchez, A., Carrillo, L., Capps, K.A. Temporal changes in the hydrology and nutrient concentrations of a large tropical river: Anthropogenic influence in the lower Grijalva River, Mexico. *River Res. Appl.* **34**, 649–660 (2018).



9. Morales-Vela, B., Olivera-Gómez, L.D., Jiménez-Domínguez, D. Unusual mortality event of manatees in a freshwater basin ecosystem in the Southern Gulf of Mexico. *Sirenews, Newsletter of the IUCN/SSC Sirenia Specialist Group* 68: 10
12. <https://www.cmaquarium.org/app/uploads/2019/02/Sirenews-68-Dec-2018.pdf>. (2018).
10. Morales-Vela, J.B., Padilla-Saldívar, J.A. Aspectos biológicos de los manatíes en el sur de Quintana Roo. In *El sistema ecológico de la bahía de Chetumal/Corozal: costa occidental del Mar Caribe* (Eds. Espinoza-Ávalos, J, Islebe, G, Hernández-Arana, H.) 115-123 (ECOSUR, 2009).
11. Tun-Canto, G.E., Álvarez-Legorreta, T., Zapata-Buenfil, G., Sosa-Cordero, E. Metales pesados en suelos y sedimentos de la zona cañera del sur de Quintana Roo, México. *Rev. Mex. Cienc. Geol.* **34**, 157-169 (2017).
12. Álvarez-Legorreta, T., Sáenz-Morales, R. Hidrocarburos aromáticos policíclicos en sedimentos de la bahía de Chetumal, In *Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias* (Eds. Botello, AV, Rendón-von, O, Gold-Bouchot, G, Agraz-Hernández, C.) 299-310 (UAC, UNAM, INE, 2005).
13. Romero-Calderón, A.G., Morales-Vela, B., Rosiles-Martínez, R., Olivera-Gómez, L.D., Delgado-Estrella, A. Metals in bone tissue of Antillean Manatees from the Gulf of Mexico and Chetumal Bay, Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **96**, 9-14 (2016).
14. Galay-Burgos, M., Spurgeon, D.J., Weeks, J.M., Stürzenbaum, S.R., Morgan, A.J., Kille, P. Developing a new method for soil pollution monitoring using molecular genetic biomarkers. *Biomarkers.* **8**, 229-239 (2003).
15. Moffat, I, et al. Comparison of toxicogenomics and traditional approaches to inform mode of action and points of departure in human health risk assessment of benzo [a] pyrene in drinking water. *Crit. Rev. Toxicol.* **45**, 1-43 (2015).



16. Christiansen, H.E. et al. Correlation of gene expression and contaminant concentrations in wild largescale suckers: a field-based study. *Sci. Total Environ.* **484**, 379-389 (2014).
17. Bowen, L. et al. Gene expression and wildlife health: varied interpretations based on perspective. *Front. Ecol. Evol.* **11**, 1157700 (2023).
18. Bowen, L. et al. Differential gene expression induced by exposure of captive mink to fuel oil: a model for the sea otter. *EcoHealth*, **4**, 298-309 (2007).
19. Niimi, S. et al. Molecular cloning and mRNA expression of cytochrome P4501A1 and 1A2 in the liver of common minke whales (*Balaenoptera acutorostrata*). *Mar. Pollut. Bull.* **51**, 784-793 (2005).
20. Buckman, A. et al. PCB-associated changes in mRNA expression in killer whales (*Orcinus orca*) from the NE Pacific Ocean. *Environ. Sci. Technol.* **45**, 10194-10202 (2011).
21. Bowen, L., Miles, A.K., Ballachey, B., Waters, S., Bodkin, J. Gene transcript profiling in sea otters post-Exxon Valdez oil spill: A tool for marine ecosystem health assessment. *J. Mar. Sci. Eng.* **4**, 39 (2016).
22. Lazensky, R. et al. Investigating the gene expression profiles of rehabilitated Florida manatees (*Trichechus manatus latirostris*) following red tide exposure. *Plos one.* **15**, e0234150 (2020).
23. Schirmer, K., Fischer, B.B., Madureira, D.J., Pillai, S. Transcriptomics in ecotoxicology. *Anal. Bioanal. Chem.* **397**, 917-923 (2010).
24. Yagishita, Y., Uruno, A., Yamamoto, M. NRF2-mediated gene regulation and glucose homeostasis. In *Molecular nutrition and diabetes* (pp. 331-348). Academic Press (2016).
25. Aronica, L. et al. Genetic biomarkers of metabolic detoxification for personalized lifestyle medicine. *Nutrients.* **14**, 768 (2022).
26. Iacopetta, D. et al. Impact of cytochrome P450 enzymes on the phase I metabolism of drugs. *Applied Sciences.* **13**, 6045 (2023).
27. Theocharis, S.E., Margeli, A.P., Klijanienko, J.T., Kouraklis, G.P. Metallothionein expression in human neoplasia. *Histopathology.* **45**, 103-118 (2004).



28. Andrews, G.K. Regulation of metallothionein gene expression by oxidative stress and metal ions. *Biochem Pharmacol.* **59**, 95–104 (2000).
29. Sigel, A., Sigel, H., Sigel, RKO. Metallothioneins and related chelators. vol 5. *Royal Society of Chemistry, Cambridge* (2009).
30. Guengerich, F.P. Cytochrome p450 and chemical toxicology. *Chem. Res. Toxicol.* **21**, 70-83 (2007).
31. Coutiño, REMR, Purata, A, Hernández, CP. Citocromo P450 biomarcador de exposición terapéutico-toxicológico-carcinogénico. *Rev. educ. bioquím.* **29**, 39-52 (2010).
32. Esler, D. et al. Cytochrome P4501A biomarker indication of oil exposure in harlequin ducks up to 20 years after the Exxon Valdez oil spill. *Environmental Toxicology and Chemistry.* **29**, 1138-1145 (2010).
33. Mescher, M, Haarmann-Stemmann, T. Modulation of CYP1A1 metabolism: From adverse health effects to chemoprevention and therapeutic options. *Pharmacol. Ther.* **187**, 71-87 (2018).
34. Rahman, M.S., Thomas, P. Effects of hypoxia exposure on hepatic cytochrome P450 1A (CYP1A) expression in Atlantic croaker: molecular mechanisms of CYP1A down-regulation. *PLoS One.* **7**, e40825 (2012).
35. Bocedi, A. et al. Glutathione transferase P1-1 an enzyme useful in biomedicine and as biomarker in clinical practice and in environmental pollution. *Nutrients.* **11**, 1741 (2019).
36. Zagórska, A, Dulak, J. HIF-1: the knowns and unknowns of hypoxia sensing. *Acta Biochim. Pol.* **51**, 563-585 (2004).
37. Bersten, DC, Sullivan, AE, Peet, DJ, Whitelaw, ML. bHLH–PAS proteins in cancer. *Nat. Rev. Cancer.* **13**, 827-841 (2013).
38. Mandl, M, Depping, R. Hypoxia-inducible aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT)(HIF-1 β): is it a rare exception?. *Mol. Med.* **20**, 215-220 (2014).
39. Dessì, M et al. Erythrocyte glutathione transferase: a potential new biomarker in chronic kidney diseases which correlates with plasma homocysteine. *Amino Acids.* **43**, 347-354 (2012).



40. Noce, A et al. Erythrocyte glutathione transferase activity: A possible early biomarker for blood toxicity in uremic diabetic patients. *Acta Diabetol.* **51**, 219-224 (2014).
41. Bocedi, A., Gambardella, G., Cattani, G., Notari, S., Pedersen, J. Z., Ricci, G. Erythrocyte glutathione transferase P1-1 as a biomarker in environmental toxicology: A new narrative. In Patel, V. B., Preedy, V. R., Rajendram, R. (Eds.). In *Biomarkers in toxicology* (pp. 415-437). Springer International Publishing (2023).
42. Rajalakshmi, T.R., Aravindh Babu, N., Shanmugam, K.T., Masthan, K.M.K. DNA adducts-chemical add-ons. *J. Pharm. Bioallied Sci.* **7**, S197-S199 (2015).
43. Allen, A.C., Mignucci-Giannoni, A.A., Kiszka, J.J. Conservation challenges and emerging threats to the West Indian manatee (*Trichechus manatus*) in Florida and Puerto Rico. *Lat. Am. J. Aquat. Mamm.* **19**, 32-41 (2024).
44. Mendoza-Carranza, M., Sepúlveda-Lozada, A., Dias-Ferreira, C., Geissen, V. Distribution and bioconcentration of heavy metals in a tropical aquatic food web: a case study of a tropical estuarine lagoon in SE Mexico. *Environ. Pollut.* **210**, 155-165 (2016).
45. Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., Barka, S., Pellerin, J., Rainbow, P.S. Metallothioneins in aquatic invertebrates: their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquat Toxicol.* **76**, 160–202, (2006).
46. Świergosz-Kowalewska, R., Bednarska, A., Callaghan, A. Expression of metallothionein genes I and II in bank vole *Clethrionomys glareolus* populations chronically exposed in situ to heavy metals. *Environ Sci Technol* **41**, 1032–1037 (2007).
47. Mikowska, M., Dziublińska, B., Świergosz-Kowalewska, R. Variation of metallothionein I and II gene expression in the bank vole (*Clethrionomys glareolus*) under environmental zinc and cadmium exposure. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **75**, 66-74 (2018).
48. Liu, J. et al. Blood metallothionein transcript as a biomarker for metal sensitivity: low blood metallothionein transcripts in arsenicosis patients from Guizhou, China. *Environ. Health Perspect.* **115**, 1101 (2007).



49. Panti, C. et al. Ecotoxicological diagnosis of striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) from the Mediterranean basin by skin biopsy and gene expression approach. *Ecotoxicology*. **20**, 1791-1800 (2011).
50. Li, Y. et al. Cytochrome P450 1A1 and 1B1 promoter CpG island methylation regulates rat liver injury induced by isoniazid. *Mol. Med. Rep.* **17**, 753-762 (2017).
51. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA). Reporte final: Atención de contingencia de manatíes en Tabasco. Actualizado al 5 de noviembre de 2018. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/410558/Reporte_mortanda_d_de_manaties_act__05_nov_18.pdf (2018).
52. Bjørneset, J. et al. Establishment of killer whale (*Orcinus orca*) primary fibroblast cell cultures and their transcriptomic responses to pollutant exposure. *Environ. Int.* **174**, 107915 (2023).
53. Foltz, K.M., Baird, R.W., Ylitalo, G.M., Jensen, B.A. Cytochrome P4501A1 expression in blubber biopsies of endangered false killer whales (*Pseudorca crassidens*) and nine other odontocete species from Hawaii 'i. *Ecotoxicology*. **23**, 1607-1618 (2014).
54. Kim, E.Y. et al. Aryl hydrocarbon receptor (AHR) and AHR nuclear translocator (ARNT) expression in Baikal seal (*Pusa sibirica*) and association with 2,3,7,8-TCDD toxic equivalents and CYP1 expression levels. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* **141**, 281-291 (2005).
55. Savas, U., Bhattacharyya, K.K., Christou, M., Alexander, D.L., Jefcoate, C.R. Mouse cytochrome P-450EF, representative of a new 1B subfamily of cytochrome P-450s. Cloning, sequence determination, and tissue expression. *J. Biol. Chem.* **269**, 14905-14911 (1994).
56. Vorrink, S.U., Domann, F.E. Regulatory crosstalk and interference between the xenobiotic and hypoxia sensing pathways at the AhR-ARNT-HIF1 α signaling node. *Chem.-Biol. Interact.* **218**, 82-88 (2014).



57. Fradette, C., Souich, P. D. Effect of hypoxia on cytochrome P450 activity and expression. *Current drug metabolism*. **5**, 257-271 (2004).
58. Fradette, C., Batonga, J., Teng, S., Piquette-Miller, M., du Souich, P. Animal models of acute moderate hypoxia are associated with a down-regulation of CYP1A1, 1A2, 2B4, 2C5, and 2C16 and up-regulation of CYP3A6 and P-glycoprotein in liver. *Drug metabolism and disposition*. **35**, 765-771 (2007).
59. Kose, T. A Comparison of GAPDH and ACTB As Internal Control for Gene Expression Studies in Different Cancer Cell Lines. *Int. J. Hematol. Oncol.* **34**, 3 (2024).
60. Ferrante, J.A., Hunter, M.E., Wellehan, J.F. Development and validation of quantitative PCR assays to measure cytokine transcript levels in the Florida manatee (*Trichechus manatus latirostris*). *J. Wildl. Dis.* **54**, 283-294 (2018).
61. Chen, I.H., et al. Selection of suitable reference genes for normalization of quantitative RT-PCR in peripheral blood samples of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Scientific Reports*. **5**, 15425 (2015).
62. Wang, Y., Guo, J, Wang, L., Tian, H, Sui, J. Transcriptome analysis revealed potential mechanisms of differences in physiological stress responses between caged male and female magpies. *BMC Genom.* **20**, 447 (2019).
63. Lobenhofer, E.K. et al. Gene expression response in target organ and whole blood varies as a function of target organ injury phenotype. *Genome Biol.* **9**, R100 (2008).
64. Vandersteen-Tymchuk, W., O'Reilly, P., Bittman, J., Macdonald, D., Schulte, P. Conservation genomics of Atlantic salmon: variation in gene expression between and within regions of the Bay of Fundy. *Mol. Ecol.* **19**, 1842-59 (2010).
65. Wright, I.E., Wright, S.D., Sweat, J.M. Use of passive integrated transponder (PIT) tags to identify manatees (*Trichechus manatus latirostris*). *Mar. Mamm. Sci.* **14**, 641-645 (1998).
66. Aarem, J., et al. Comparison of blood RNA isolation methods from samples stabilized in Tempus tubes and stored at a large human biobank. *BMC Res Notes*. **9**, 430 (2016).



67. Toni, L.S. et al. Optimization of phenol-chloroform RNA extraction. *MethodsX*. **5**, 599-608 (2018).
68. Gungl, A et al. Fra2 overexpression in mice leads to non-allergic asthma development in an IL-13 dependent manner. *Front. Immunol.* **9**, (2018).
69. Bustin, SA, et al. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clin Chem.* **55**, 611-22 (2009).
70. Green, M.R., Sambrook, J. Constructing a Standard Curve for Real-Time Polymerase Chain Reaction (PCR) Experiments. *Cold Spring Harb. Proto.* doi: 10.1101/pdb.prot095026 (2018).
71. Silver, N., Best, S., Jiang, J., Thein, S.L. Selection of housekeeping genes for gene expression studies in human reticulocytes using real-time PCR. *BMC molecular biology.* **7**, 33 (2006).
72. Pfaffl, M.W., Tichopad, A., Prgomet, C., Neuvians, T.P. Determination of stable housekeeping genes, differentially regulated target genes and sample integrity: BestKeeper–Excel-based tool using pair-wise correlations. *Biotechnol. Lett.* **26**, 509-515 (2004).
73. Andersen, C.L., Jensen, J.L., Ørntoft, T.F. Normalization of real-time quantitative reverse transcription-PCR data: a model-based variance estimation approach to identify genes suited for normalization, applied to bladder and colon cancer data sets. *Cancer research.* **64**, 5245-5250 (2004).
74. Xie, F., Xiao, P., Chen, D., Xu, L., Zhang, B. miRDeepFinder: a miRNA analysis tool for deep sequencing of plant small RNAs. *Plant Mol. Biol.* **80**, 75-84 (2012).
75. Gómez-Carrasco, G. et. al. Environmental Stress in Wild Armored Catfish *Pterygoplichthys spp.* Through *CYP1A* Gene Expression. *ecologies*, **7**, 1 (2025).



Agradecimientos

El primer autor agradece la beca (592712) otorgada por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) para sus estudios de doctorado en la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Gracias a ECOSUR-Chetumal y Sac-Tun por su apoyo para la obtención de muestras de manatí de la Bahía de Chetumal y la adquisición de reactivos para esta investigación. Gracias a la Secretaría de Bienestar del estado de Tabasco por proporcionar muestras de tejido de manatíes muertos y al Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Tabasco (CCYTET) por su apoyo en la adquisición de reactivos para esta investigación. El primer autor también agradece sinceramente al Ecólogo Jesús Manuel Félix Hernández por su valiosa contribución y apoyo durante el trabajo de laboratorio. Los permisos para la recolección de muestras de manatí fueron los siguientes: en el Golfo de México, n.º SGPA/DGVS/008615/18, y en el Mar Caribe frente a México, n.º SGPA/DGVS/10361/21.

Contribuciones de los autores

Gómez Carrasco, G., fue responsable de la recolección de muestras, la realización de análisis de laboratorio, la redacción del borrador del artículo y el financiamiento de parte del muestreo y los reactivos. Lesher-Gordillo, J.M., fue responsable del diseño del estudio, el financiamiento de los reactivos y la revisión y corrección del manuscrito. Olivera-Gómez, L.D., contribuyó al diseño del estudio, el análisis estadístico de los resultados y la revisión y corrección del manuscrito. Morales-Vela, B., contribuyó a la recolección de muestras de la Bahía de Chetumal, ayudó con el financiamiento de los reactivos y revisó el manuscrito. De la Cruz-Hernández, E., asesoró en el desarrollo del análisis de expresión génica. Jiménez-Domínguez, D., contribuyó a la recolección de muestras. Machkour-M'Rabet, S., corrigió y revisó el manuscrito. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.



Información adicional

Declaración de conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Declaración de disponibilidad de datos

Las contribuciones originales presentadas en este estudio se incluyen en el artículo. Para más información, contacte con los autores de correspondencia.

Leyendas de las figuras

Fig. III-1: Gel de agarosa (2%) de productos de PCR amplificados para GAPDH y ACTB, los genes de referencia candidatos. El ADN LADDER corresponde a 100 pb.

Fig. III-2: Representación en diagrama de caja de los niveles relativos de expresión de los genes *MT2*, *CYP1A1*, *ARNT* y *GSTP1-1* para *Trichechus manatus manatus* entre los sitios de muestreo. La normalización se realizó con respecto a las combinaciones de los genes *GAPDH* y *ACTB*. Los valores p corresponden a una prueba t por pares, utilizando el ajuste de Bonferroni. Sitios de muestreo: GRB: sitio de la cuenca de Grijalva, ChB: Bahía de Chetumal; el cautiverio corresponde al centro de rehabilitación de la UJAT. Los colores de los puntos se refieren a los tejidos de muestreo: rojo (capas leucocíticas); Verde (hígado); azul (piel).

Fig. III-3: Representación en diagrama de caja de los niveles relativos de expresión de los genes *MT2*, *CYP1A*, *ARNT* y *GSTP1-1* en diferentes muestras de tejido de *Trichechus m. manatus*. La normalización se realizó con respecto a las combinaciones de los genes *GAPDH* y *ACTB*. Los valores p corresponden a una prueba t pareada, utilizando el ajuste de Bonferroni. Tejidos: Capas leucocíticas; Hígado y Piel. El color de los puntos se refiere a los sitios de muestreo: rojo (sitio de la cuenca de Grijalva); verde (centro de rehabilitación de la UJAT); azul (Bahía de Chetumal). El cautiverio corresponde al centro de rehabilitación de la UJAT.



Fig. III-4: Mapa de los sitios de muestreo en esta investigación. A) Representa los sitios de estudio en el sur del Golfo de México y el Mar Caribe frente a México; el círculo azul corresponde a la Bahía de Chetumal (ChB) en el estado de Quintana Roo. B) Representando el sur del Golfo de México, en el estado de Tabasco, la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla (RBPC) está delimitada por líneas punteadas rojas. El círculo verde muestra el sitio de muestreo en la cuenca baja del río Grijalva (GRB), y el círculo amarillo muestra el grupo de manatíes en cautiverio en el Golfo de México.

Tabla III-1. Parámetros de pendiente, coeficiente de correlación (r^2) y eficiencia obtenidos a partir de qPCR para todos los genes analizados para *Trichechus manatus manatus*.

Gen	Pendiente	r^2	Eficiencia %
<i>ACTB</i>	-3.39	0.999	97.04
<i>GAPDH</i>	-3.27	0.997	102.01
<i>MT2</i>	-3.15	0.998	107.50
<i>CYP1A1</i>	-3.28	0.998	101.60
<i>ARNT</i>	-3.23	0.999	103.60
<i>GSTP1-1</i>	-3.21	0.995	104.90

Tabla III-2. Clasificación de la estabilidad de la expresión de dos genes de referencia en muestras de *Trichechus manatus manatus*.

Gen	ΔCt	BestKeeper	Normfinder	RefFinder
	Average of STDEV	coeff. of corr (r)	Stability value	Geomean
<i>GAPDH</i>	1.31	0.937	1.236	2.06
<i>ACTB</i>	1.31	0.968	1.236	2.06
<i>GAPDH + ACTB</i>	0.87	1.000	0.437	1.19



Tabla III-3. Oligonucleótidos para el estudio de la expresión génica diseñados específicamente para *Trichechus manatus*.

Gen	Secuencia Forward (F) y Reverse (R)	Tamaño en pares de bases (Pb)	Número de acceso GenBank
<i>ACTB</i>	F: GATCTGGCACCACACTTTC R: GTCTCGAACATGATCTGGGT	126	XM_004380831.3
<i>GAPDH</i>	F: ACTATCTTCCAGGAGCGAGAT R: CCAGCTTTCTCCAAGGTTGT	104	XM_004387206.3
<i>CYP1A1</i>	F: CCAACTCTCTGACAGGCTCCAG R: TTGTGTCTCTCGTGGTGCTGTG	113	XM_004374750.2
<i>MT2</i>	F: ACACCCTCTTCGCCACCT R: GACACAGGAGTCACCAGCAG	92	XM_004371563.2
<i>ARNT</i>	F: GCTGCTAACCCCGAAATGAC R: TGACCCCTCCACCTTGAATC	94	XM_023724606.1
<i>GSTP1-1</i>	F: ACGACTACGTGAGAGCACTG R: CGGCAAAGGATATCTGGTCAC	108	XM_004383893.2



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

CAPÍTULO IV.

PATRONES DE EXPRESIÓN GÉNICA EN *Ctenopharyngodon idella* EN RESPUESTA A ESTRÉS AMBIENTAL EN EL SUR DEL GOLFO DE MÉXICO



Nombre del artículo: Patrones de expresión génica en *Ctenopharyngodon idella* en respuesta a estrés ambiental en el sur del Golfo de México.

Autores: Guadalupe Gómez-Carrasco¹, Julia María Leshher-Gordillo^{1*}, León David Olivera-Gómez^{1*}, Salima Machkour-M'Rabet², Benjamín Morales-Vela³, Erick De la Cruz-Hernández⁴

Resumen: La cuenca de los Ríos Grijalva-Usumacinta, en el Sur del Golfo de México, crece la preocupación por la contaminación ambiental antropogénica. La parte baja de esta cuenca forma una extensa área de humedales que aloja una alta biodiversidad y especies prioritarias para la conservación y es objeto de pesca artesanal de especies dulceacuícolas. Esta investigación se planteó como objetivos determinar los patrones de la expresión de los genes *MT2*, *CYP1A*, *ARNT*, así como comparar las diferencias de la expresión entre temporada de secas y lluvias, en hígado de *Ctenopharyngodon idella*, carpa herbívora o bobo escama como se le conoce localmente, en sitios con diferente nivel potencial de estrés ambiental en la parte baja de la cuenca de los Ríos Grijalva-Usumacinta. Se recolectaron muestras en las localidades de Ribera Alta, río Bitzales y Laguna Chaschoc durante las estaciones seca y lluviosa. Se aisló ARN de muestras de hígado, que posteriormente se convirtieron en ADNc. Se utilizó PCR cuantitativa para analizar la expresión de los genes de interés. Los resultados indicaron diferencias entre las localidades para el gen *CYP1A* ($p=0.032$), siendo la Laguna Chaschoc donde se registraron los menores niveles de expresión. Entre temporadas no observamos diferencias estadísticas. Los resultados encontrados sugieren que los organismos de la Ribera Alta y río Bitzales están sometidos a una mayor presión por contaminantes.

Palabras clave: PCR cuantitativa, *Metalotioneína*, *CYP1A*, *ARNT*, biomarcador molecular, contaminación, subcuenca Grijalva-Usumacinta.

Institución de adscripción de cada autor: ¹ Centro de Investigación Para la Conservación y El Aprovechamiento de los Recursos Tropicales (CICART), División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carretera Villahermosa-Cárdenas Km 0.5 S/N, Ranchería Emiliano Zapata, Villahermosa 86150, Tabasco, México

² Departamento de Conservación de la Biodiversidad, El Colegio de la Frontera Sur, Avenida del Centenario km 5.5, Chetumal 77014, Quintana Roo, México

³ El Colegio de la Frontera Sur, Avenida del Centenario km 5.5, Chetumal 77014, Quintana Roo, México

⁴ Laboratorio de Investigación en Enfermedades Metabólicas e Infecciosas, División Académica Multidisciplinaria de Comalcalco, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Ranchería Sur Cuarta Sección, Comalcalco City 86650, Tabasco, México

* Corresponding authors: J. M. Leshher-Gordillo: julialesher1@gmail.com L. D. Olivera-Gómez :leon_olivera@yahoo.com.mx

Este artículo se encuentra en proceso de edición final y no ha sido sometido a ninguna revista.



Patrones de expresión génica en *Ctenopharyngodon idella* en respuesta a estrés ambiental en el sur del Golfo de México

Guadalupe Gómez-Carrasco¹, Julia María Leshner-Gordillo^{1*}, León David Olivera-Gómez^{1*}, Salima Machkour-M'Rabet², Benjamín Morales-Vela³, Erick De la Cruz-Hernández⁴

¹ Centro de Investigación Para la Conservación y El Aprovechamiento de los Recursos Tropicales (CICART), División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carretera Villahermosa-Cárdenas Km 0.5 S/N, Ranchería Emiliano Zapata, Villahermosa 86150, Tabasco, México

² Departamento de Conservación de la Biodiversidad, El Colegio de la Frontera Sur, Avenida del Centenario km 5.5, Chetumal 77014, Quintana Roo, México

³ El Colegio de la Frontera Sur, Avenida del Centenario km 5.5, Chetumal 77014, Quintana Roo, México

⁴ Laboratorio de Investigación en Enfermedades Metabólicas e Infecciosas, División Académica Multidisciplinaria de Comalcalco, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Ranchería Sur Cuarta Sección, Comalcalco City 86650, Tabasco, México * Autor de correspondencia: J. M. Leshner-Gordillo: julialesher1@gmail.com L. D. Olivera-Gómez: leon_olivera@yahoo.com.mx

Resumen

La cuenca de los Ríos Grijalva-Usumacinta, en el Sur del Golfo de México, crece la preocupación por la contaminación ambiental antropogénica. La parte baja de esta cuenca forma una extensa área de humedales que aloja una alta biodiversidad y especies prioritarias para la conservación y es objeto de pesca artesanal de especies dulceacuícolas. Esta investigación se planteó como objetivos determinar los patrones de la expresión de los genes *MT2*, *CYP1A*, *ARNT*, así como comparar las diferencias de la expresión entre temporada de secas y lluvias, en hígado de *Ctenopharyngodon idella*, carpa herbívora o bobo escama como se le conoce localmente, en sitios con diferente nivel potencial de estrés ambiental en la parte baja de la cuenca de los Ríos Grijalva-Usumacinta. Se recolectaron muestras en las localidades de Ribera Alta, río Bitzales y Laguna Chaschoc durante las estaciones seca y lluviosa. Se aisló ARN de muestras de hígado, que posteriormente se convirtieron en ADNc. Se utilizó PCR cuantitativa para analizar la expresión de los



genes de interés. Los resultados indicaron diferencias entre las localidades para el gen *CYP1A* ($p=0.032$), siendo la Laguna Chaschoc donde se registraron los menores niveles de expresión. Entre temporadas no observamos diferencias estadísticas. Los resultados encontrados sugieren que los organismos de la Ribera Alta y río Bitzales están sometidos a una mayor presión por contaminantes.

Palabras clave: PCR cuantitativa, Metalotioneína, *CYP1A*, *ARNT*, biomarcador molecular, contaminación, subcuenca Grijalva-Usumacinta.

Introducción

En el sur del Golfo de México, la subcuenca del Río Grijalva-Usumacinta está amenazada por la contaminación antropogénica con metales pesados, hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) y plaguicidas organoclorados, (Ponce-Vélez y Lanza-Espino, 2019; Ruiz-Fernández et al., 2019; Musalen-Castillejos et al., 2018; Chi-Coyoc et al., 2016; Ruiz-Fernández et al., 2016; Laino-Guanes et al., 2015), esto como producto de la intensa actividad petrolera y agrícola en la región (Sánchez-Munguía, 2005).

Los análisis químicos han sido la forma clásica de medir la exposición a contaminación en organismos silvestres (Galay-Burgos et al., 2003), aunque este tipo de estudios son necesarios, la limitante de este enfoque es que no permite cuantificar la magnitud del daño biológico crónico, dificultando la previsión de riesgos para la salud y la reproducción (Moffat et al., 2015). Las metodologías moleculares se han consolidado como instrumentos clave para identificar alteraciones en el metabolismo, lo que facilita el entendimiento de las consecuencias nocivas de la contaminación sobre la integridad de los seres vivos (Christiansen et al., 2014).

A diferencia de los métodos convencionales, los análisis de expresión genética permiten discernir con mayor claridad cómo la exposición a contaminantes moldea



la respuesta fisiológica de los organismos, ofreciendo así biomarcadores de detección temprana (Fisher y Oleksiak, 2007). La presencia de agentes tóxicos en el entorno suele inducir cambios en los perfiles de expresión génica (Thomas et al., 2001); en consecuencia, evaluar dichas alteraciones constituye un método eficaz para supervisar la toxicidad ambiental, facilitando la detección oportuna de riesgos sanitarios en las poblaciones naturales y sus hábitats (Thomas et al., 2001).

Los genes asociados con las familias de enzimas del citocromo P450 (*CYP450*) y de las Metalotioneinas (*MT*), son considerados los biomarcadores biológicos más usados para evaluar efectos toxicológicos (Cheung et al., 2004; Oleksiak, 2008). Las *MT* son proteínas que responden al estrés causado por metales pesados (Viarengo et al., 1999). Su capacidad para unirse a metales pesados les convierte en un biomarcador útil para el monitoreo ambiental (Yang et al., 2024). El gen *CYP1A* es empleado en diversos estudios de peces, para evaluar ambientes contaminados (Wills et al., 2010; Oleksiak, 2008; Fisher y Oleksiak, 2007). La expresión de *CYP1A* en el hígado de los peces aumenta con la exposición a una variedad de compuestos químicos como los hidrocarburos aromáticos policíclicos y los compuestos organoclorados (Quiros et al., 2007). Además, el Translocador Nuclear del Receptor de Hidrocarburos de Ailos (*ARNT*) cumple con una función vital en la regulación genética durante la exposición a xenobióticos (Rahman et al., 2012).

Los peces sirven como valiosos bioindicadores de contaminación debido a su alto potencial de bioacumulación y susceptibilidad a los cambios ambientales (Ahmed et al., 2022). En el sur del Golfo de México, en la subcuenca del Río Grijalva, existe una gran variedad de especies de peces entre ellas podemos encontrar a la carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*, Valenciennes, 1844; *Actinopterygii: Cyprinidae*) una especie introducida que ha sido extensamente utilizada en estudios para medir la bioacumulación de xenobióticos en sitios contaminados (Tlenshieva et al., 2022; Khan et al., 2023; Kovacik et al., 2024).



La mayoría de las evaluaciones para identificar la presencia de contaminantes en la subcuenca del río Grijalva-Usumacinta han sido dirigidas mediante análisis químicos tradicionales. Estudios recientes de expresión génica apenas comienzan a emplearse para la identificar HAPs en el bagre acorazado (Gómez-Carrasco et al., 2025). No obstante, todavía hacen falta más estudios de este tipo ampliando el uso de biomarcadores moleculares y otras especies que aporten más información sobre los efectos ecotoxicológicos de los contaminantes en esta región.

Los objetivos de este trabajo son determinar los patrones de la expresión de los genes *MT2*, *CYP1A*, *ARNT*, así como comparar las diferencias de la expresión entre temporada de secas y lluvias en hígado de *Ctenopharyngodon idella* en sitios con diferentes niveles de estrés ambiental en la subcuenca baja de los Ríos Grijalva-Usumacinta. Los resultados de esta investigación permitirán una mejor comprensión de los efectos moleculares asociados a la exposición de contaminantes en estos organismos, además servirán como indicadores de la salud ecológica de esta cuenca y contribuirán con el diseño de planes de manejo y conservación más apropiados y efectivos en esta subcuenca. Finalmente, esta información también será útil para la protección de especies nativas y en peligro de extinción que comparten hábitat con la carpa herbívora.

Materiales y métodos

Área de estudio

El muestreo se realizó en tres localidades del estado de Tabasco, cada una con diferentes niveles reportados de contaminación (Figura IV-1). Se seleccionaron dos puntos de muestreo en la subcuenca baja del río Grijalva: 1) río Bitzales (Bit-G) (92°22'5.61" O, 18°1'48.42" N), en el municipio de Macuspana; y 2) Ribera Alta (RA-G) (92°33'23.43" O, 18°22'32.53" N), en el municipio de Centla. Ambas localidades se encuentran dentro de la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla (RBPC), una importante Área Natural Protegida Federal que se caracteriza por su alta



biodiversidad (López-Jiménez et al., 2020). 3) El tercer sitio de estudio fue la Laguna Chaschoc (CL-U) ($91^{\circ}42'59.22''$ O, $17^{\circ}47'21.90''$ N), ubicada en el municipio de Emiliano Zapata, un área influenciada por la subcuenca baja del río Usumacinta. CL-U es parte del humedal Chaschoc, un sitio importante para la conservación de la biodiversidad (Gordillo-Chávez et al., 2015).

La subcuenca baja del río Grijalva ha sufrido numerosos impactos humanos que han resultado en un deterioro significativo en la calidad del agua y los ecosistemas fluviales (Lázaro-Vázquez et al., 2018; Musálem-Castillejos et al., 2018). Esta subcuenca se ha visto afectada por presiones antropogénicas, como la extracción de petróleo, la agricultura y las descargas de aguas residuales sin tratar (Lázaro-Vázquez et al., 2018; Plascencia-Vargas et al., 2014). Además, la construcción de cuatro grandes represas hidroeléctricas en el cauce principal del río Grijalva ha alterado el flujo natural del río, impactando el ecosistema (Alcérreca-Huerta et al., 2019; Mendoza et al., 2022). El tercer sitio de estudio fue la Laguna Chaschoc (CL-U) ($91^{\circ}42'59.22''$ O, $17^{\circ}47'21.90''$ N), ubicada en el municipio de Emiliano Zapata, un área influenciada por la subcuenca baja del río Usumacinta. CL-U es parte del humedal Chaschoc, un sitio importante para la conservación de la biodiversidad (Gordillo-Chávez et al., 2015). A diferencia del río Grijalva, el río Usumacinta es considerado como el “último río vivo” de México debido a la ausencia de gran infraestructura hidráulica y extensos asentamientos urbanos, lo que le permite conservar su caudal natural (Vázquez-Aguilar et al., 2016; Castillo-Cruz y Medrano-Pérez, 2023) y una calidad de agua superior en comparación con el río Grijalva (Horton et al., 2021).

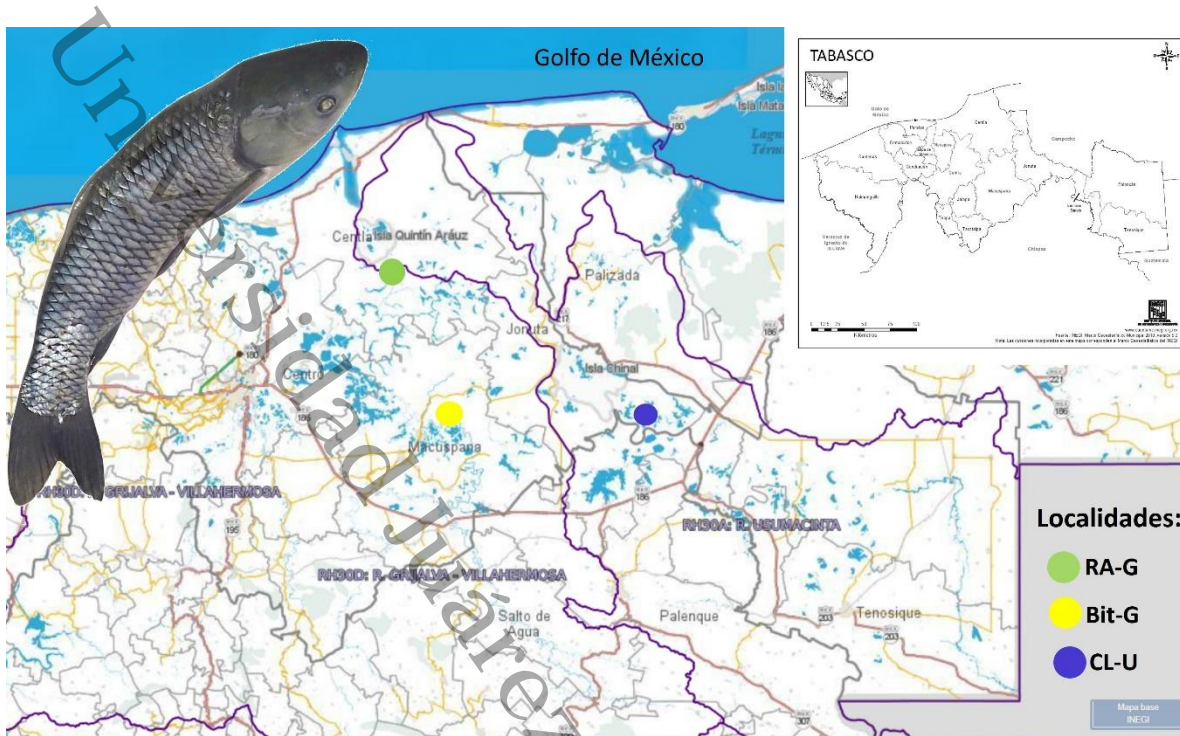


Figura IV-1. Localidades de muestreo en la cuenca baja del río Grijalva-Usumacinta en la llanura costera del Golfo de México, en el Estado de Tabasco México. En la parte superior izquierda se encuentra la foto de un ejemplar de *C. idella* analizado en esta investigación. El círculo verde representa la localidad de Rivera Alta en la cuenca del río Grijalva (RA-G). El círculo amarillo corresponde a la localidad Bitzales, en la cuenca del río Grijalva (Bit-G). El círculo azul representa a la Laguna Chaschoc, en la cuenca del río Usumacinta (CL-U).

Muestras

Un total de 50 ejemplares adultos de *Ctenopharyngodon idella* silvestres se colectaron, de estas solo 36 (Tabla IV-1) tenían la calidad e integridad del ARN para el análisis de expresión génica. Los organismos se capturaron con la ayuda de pescadores locales en temporada de secas y de lluvias (abril-junio y noviembre-diciembre de 2021, respectivamente) en las tres localidades de la cuenca baja del Río Grijalva-Usumacinta. Una vez capturados los organismos vivos fueron transportados en cubetas con agua, en un periodo no mayor a ocho horas, al



laboratorio de Genómica de la División Académica de Ciencias Biológicas (UJAT) para su posterior análisis. El sacrificio de los peces se realizó siguiendo las indicaciones establecidas en la Norma Oficial Mexicana NOM-033-SAG/ZOO-2014 (DOF, 2015). El hígado de cada pez fue extraído y cortado en trozos de 100 mg, y triturado inmediatamente con nitrógeno líquido y fue almacenado en tubos de microcentrífuga de 1.5 ml a -80 °C para la posterior extracción de ARN.

Tabla IV-1. Número de muestras de hígado de *Ctenopharyngodon idella* colectadas para este estudio durante la temporada de secas y lluvias en localidades de la cuenca baja del río Grijalva-Usumacinta.

Localidades	Temporada de	Temporada de	Total
	Secas	Lluvias	
CL-U	7	5	12
RA-G	6	6	12
Bit-G	6	6	12
Total			36

CL-U=Sistema lagunar Chaschok, Usumacinta; RA-G=Ribera Alta, Grijalva; Bit-G, Río Bitzales, Grijalva.

Aislamiento de ARN y análisis de expresión genética

El ARN total de cada muestra de hígado se aisló usando entre 50 y 100 mg, de muestra, la extracción de los ácidos nucleicos se realizó con el método de fenol-cloroformo (Toni et al., 2018). El ADN genómico se eliminó usando DNasa I (Thermo Scientific, Vilnius, Lithuania). La pureza y concentración del ARN se cuantifico utilizando el sistema de espectrofotometría Epoch (Agilent BioTek, Inc., Winooski, VT, USA). La síntesis del cDNA, se realizó con el kit High-Capacity RNA-to-cDNA™ (Applied Biosystem, Foster City, CA, USA) siguiendo las indicaciones del fabricante y almacenado a -20°C hasta su posterior análisis.



Selección de los genes de referencia y los genes de interés y diseño de oligonucleótidos

Los genes *GAPDH* (Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa) y *ACTB* (Beta actina) (Kose, 2024) se seleccionaron como genes de referencia. Los genes de interés elegidos fueron *MT2*, *CYP1A1* y *ARNT* los cuales tienen una función importante en el proceso eliminación de xenobióticos. Los oligonucleótidos se diseñaron usando las secuencias codificantes reportadas para *C. idella* en el GenBank (National Center of Biotechnology Information, NCBI) (Tabla IV-2). Las secuencias de los aminoácidos se predijeron empleando open Reading frame (ORF) Finder (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/gorf/>). Se usó el BLAST (NCBI) para comprobar la inespecificidad de secuencias. Todos los pares de oligonucleótidos fueron sintetizados por Integrated DNA Technologies.

La qPCR se realizó en un volumen de 10 μ L que contenía 2 μ L de ADNc (500 ng), 5 μ L de 2x PowerUp SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems, Austin, TX, USA), 0.25 μ L de cada primer, y 2.5 μ L de agua libre de nucleasas (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MD, USA). Todas las reacciones se analizaron por duplicado y se incluyeron controles sin ADNc (No Template Control, NTC) para garantizar la ausencia de contaminación. Los análisis de qPCR se llevaron a cabo en la plataforma de StepOne (Applied Biosystem), teniendo las siguientes condiciones de amplificación: 95°C por 3 minutos, seguidos por 45 ciclos de 95°C por 10 s y 60°C por 30 s. Para corroborar la especificidad de los productos de PCR amplificados se realizó una curva de disociación (curva de Melt) y una electroforesis en gel de agarosa al 2% (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), usando TAE1X, escalera de ADN de 100 bp (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), buffer de carga 6X (Invitrogen, USA) y Bromuro de etidio (Invitrogen, USA) (Gungl et al., 2018). Los genes de referencia *ACTB* y *GAPDH*, fueron usados para normalizar de los datos de expresión génica, esta normalización fue evaluada utilizando los algoritmos Delta Ct (Δ Ct) (Silver et al., 2006), BestKeeper (Pfaffl et al., 2004), NormFinder (Andersen et al., 2004) y RefFinder (Xie et al., 2012). Los resultados se expresan como la relación entre el



ciclo umbral (Ct) de los genes de referencia *ACTB* y *GAPDH* y los genes de interés *CYP1A*, *MT2* y *ARNT*.

Análisis estadístico

Para evaluar las diferencias en la relación Ct promedio entre localidades y temporadas, se realizó un análisis de varianza, ANOVA, de dos vías. Para las comparaciones múltiples se utilizó una prueba a posteriori de T (pairwise t test) en el paquete *car* de R, para el ajuste se utilizó el procedimiento de Bonferroni. El programa R fue usado para realizar todos los análisis estadísticos (versión 4.3.3).

Tabla IV-2. Oligonucleótidos para el estudio de la expresión génica de *C. idella*.

Gen	Secuencia Forward (F) y Reverse (R)	Tamaño (Pb)	# Acceso GenBank
<i>ACTB</i>	F: TGACGAGGCTCAGAGCAAGA R: GCAACACGCAGCTCGTTGTA	126	DQ211096.1
<i>GAPDH</i>	F: CCGATGTGTCCGTTGTTGAC R: CCCTTCATTGGTCCATGAGC	103	GQ266395.1
<i>CYP1A</i>	F: AACGTCCAAGTGTCCGATGAGA R: GTAGGCCACTAGATAGACAACAGC	114	MK852703.1
<i>MT2</i>	F: TCAATGAGGAGGTCAACGTG R: AGACAACATTCATGCGATGC	92	KC256783.1
<i>ARNT</i>	F: AAGAACCGAGAGTGGATGCT R: TGGTGTGGTGCAGATGATG	94	AY596921.1



Resultados

El ANOVA de dos vías incluyendo la interacción de sitios:temporadas mostró diferencias significativas para el factor Localidad con el gen *CYP1A* (Localidad $F = 3.8456$, $df = 2$, $p = 0.0319$) encontrándose las mayores diferencias entre RA-G y CL-U. Mientras que para el factor Temporada no hubo diferencias ($F = 2.1126$, $df = 1$, $p = 0.1558$). Para los genes *MT2* y *ARNT* no hubo diferencias estadísticas en ninguno de los factores evaluados.

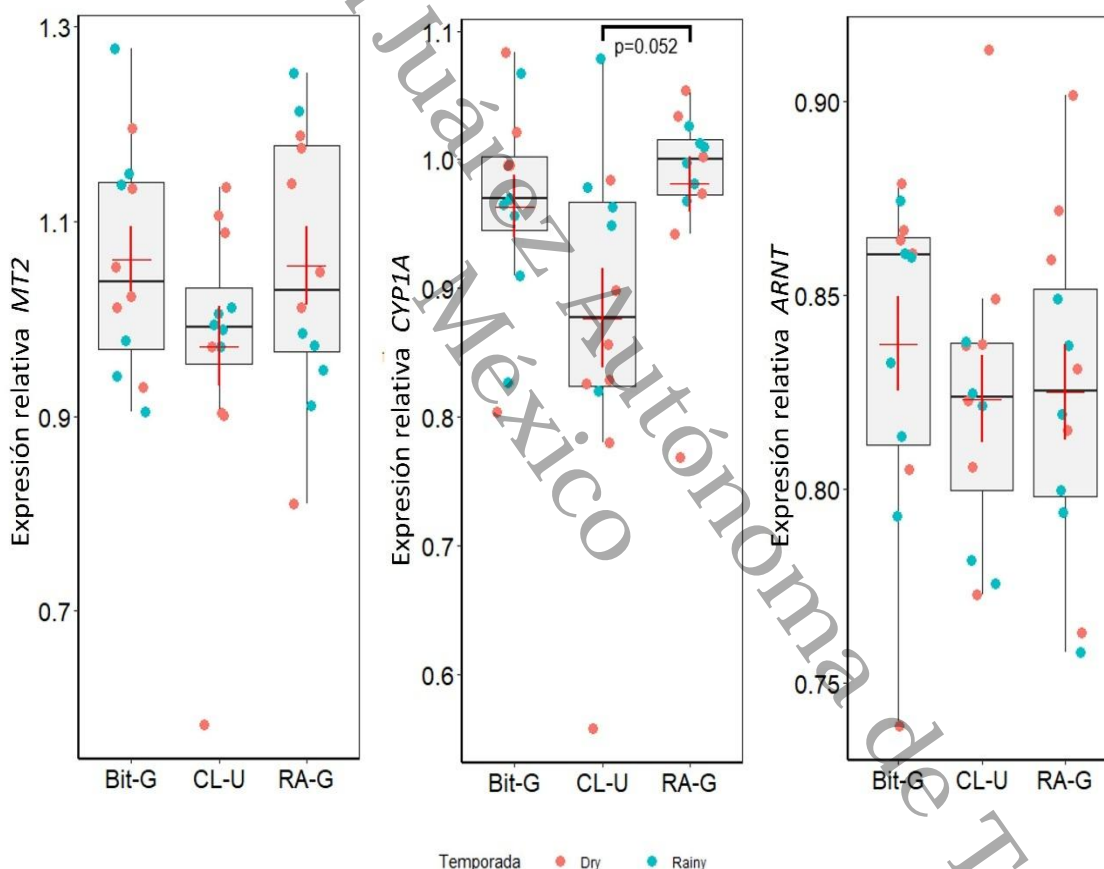


Figura IV-2. Expresión génica entre localidades agrupadas por estación. Los diagramas de caja y bigote muestran la distribución de los valores normalizados del ciclo umbral (Ct) de los genes de interés *MT2*, *CYP1A* y *ARNT* con la normalización combinada de los genes de referencia *ACTB-GAPDH*. La línea negra dentro de la caja señala la mediana. La cruz roja señala la media de cada grupo. En la parte superior se incluye el análisis de comparaciones múltiples.



Discusión

La expresión relativa de los genes *MT2*, *CYP1A* y *ARNT* en hígado de *Ctenopharyngodon idella* provenientes de tres localidades de la cuenca baja del Grijalva-Usumacinta, fue evaluada en este trabajo. En términos generales, a pesar de que no todos los resultados fueron estadísticamente significativos, estos evidencian un patrón consistente con el gradiente de contaminación previamente descrito para la región (Mendoza-Carranza et al., 2016; Lázaro-Vázquez et al., 2018; Castañeda-Chávez et al., 2021), observándose la mayor expresión de los genes evaluados en RA-G y Bit-G, mientras que en CL-U la expresión fue menor, lo cual concuerda con un menor impacto reportado de la contaminación en esta zona (Vázquez-Aguilar et al., 2016; Castillo-Cruz and Medrano-Pérez, 2023).

A pesar de que no se observaron diferencias estadísticas, la expresión del gen *MT2* mostró una clara inclinación hacia valores superiores en los puntos RA-G y Bit-G, en comparación con CL-U donde la expresión fue menor. Las metalotioneinas responden al estrés causado por metales pesados en los organismos (Kadim y Risjan, 2022) y cambios en los niveles de expresión del gen de metalotioneinas, *MT2*, en peces ha sido utilizado como biomarcador de metales pesados en los ecosistemas (Girgis et al., 2019). El incremento de *MT2* observado en el hígado de *C. idella* en RA-G y Bit-G sugiere una mayor exposición a metales pesados en estos sitios, lo cual concuerda con su caracterización como zonas con mayor influencia de descargas antropogénicas en la región (Lázaro-Vázquez et al., 2018; Castañeda-Chávez et al., 2021). Reportes similares sobre el aumento de *MT* en zonas con mayor contaminación han sido descritos en otras especies de peces, como *Oreochromis niloticus*, en la que se reportó un aumento significativo en la expresión de *MT* en hígado de tilapias en respuesta a contaminación por metales pesados (Abumourad et al., 2014). En este pez se encontraron mayores niveles de expresión de genes *MT* en hígado en comparación con musculo (Girgis et al., 2019). De forma similar en el bagre africano (*Clarias gariepinus*) se informó una mayor



expresión de *MT* en hígado, correlacionada con sitios con alto grado de contaminación (M'kandawire et al., 2017).

El gen *CYP1A* mostró un comportamiento distintivo entre las localidades analizadas. Aunque la diferencia entre RA-G y CL-U alcanzó apenas una significancia marginal ($p=0.052$), este hallazgo sugiere una diferencia en la respuesta metabólica de ambas zonas. El gen *CYP1A* es inducido por hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), bifenilos policlorados (PCBs) y otros compuestos orgánicos persistentes, por medio de la activación del receptor de hidrocarburos de arilo (*AHR*) (Rahman y Tomas, 2012) y es considerado como un biomarcador centinela de estos contaminantes (Nambiar et al., 2025). Estos resultados posicionan a *CYP1A* como el biomarcador más sensible entre los tres evaluados, evidenciando una respuesta molecular clara frente al gradiente de contaminación. En otros estudios se han reportado resultados de una elevada expresión de *CYP1A* en peces correlacionada con sitios contaminados, en trucha marrón (*Salmo trutta*: Quirós et al., 2007), en un cíclido amazónico (*Astronotus ocellatus*: dos Anjos et al., 2011), en el bagre (*Ariopsis felis*: Zapata-Pérez et al., 2010) y en varias especies de peces de agua dulce (Williams et al., 2022). Resultados similares han sido reportados en la localidad RA-G en el pez diablo (*Pterygoplichthys spp.*), con niveles altos de expresión génica de *CYP1A* en hígado (Gómez-Carrasco et al., 2025). En este contexto, los resultados en el hígado de carpa herbívora y los del pez diablo, indican un nivel alto de presencia de HAPs y PCBs, esto compromete la salud de los organismos que se distribuyen en esta zona.

La ausencia de diferencias significativas en la expresión de *ARNT* sugiere que este gen mantiene una regulación basal constante frente a las variaciones espaciales y estacionales evaluadas. Es importante mencionar que, de los tres genes evaluados en este trabajo, *ARNT* fue en el que se observó menor expresión.

El gen *ARNT* es un cofactor nuclear esencial para la actividad transcripcional del complejo *AHR* (receptor de hidrocarburos arílicos), en conjunto median las



respuestas del metabolismo de varios xenobióticos para mediar sus efectos tóxicos (Vogel et al., 2020). A pesar de no observar diferencias estadísticas, Bit-G fue la localidad donde se notó un ligero aumento en la expresión de este gen, seguido de RA-G, esto concuerda en que son las áreas de estudio con mayor contaminación (Ponce-Vélez y Lanza-Espino, 2019; Ruiz-Fernández et al., 2019). Resultados similares de una mayor expresión del gen *ARNT* relacionados con la exposición a contaminantes ambientales han sido reportados en la corvina atlántica (*Micropogonias undulatus*) (Rahman y Thomas, 2018), también en copépodos (*Tigriopus japonicus*) (Kim et al., 2015) y en un bivalvo (*Chlamys farreri*) (Tian et al., 2013).

Finalmente, cuando se realizó el análisis en relación con la temporada de lluvias y secas, no se identificaron diferencias estadísticas significativas en ninguno de los sitios evaluados ni entre los genes analizados. La homogeneidad y el ligero incremento en la respuesta del gen *CYP1A* en RA-G durante las lluvias sugieren que la población de carpas enfrenta una presión química uniforme. Esta baja variabilidad entre individuos indica una exposición sistémica y generalizada a inductores como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), probablemente facilitada por la dinámica hidrológica de la temporada. Este patrón de la expresión genética en RA-G probablemente sea resultado del mayor transporte de estos contaminantes durante las lluvias relacionado con el aumento de la escorrentía (de Souza Bery et al., 2024). En relación con lo anterior, estudios previos han reportado que el aumento de las precipitaciones en el Río Grijalva se correlaciona con niveles elevados de minerales, turbidez y coliformes totales (Musálem-Castillejos et al., 2018). Además, en la temporada de lluvias, los altos niveles de descargas de nutrientes del sistema de los ríos Grijalva-Usumacinta hacia la zona litoral costera incrementan significativamente la disponibilidad de nutrientes (Cardoso-Mohedano et al., 2022). Otra tendencia observada fue en CL-U, los resultados de la expresión del gen *MT2* durante la temporada de lluvias exhibió un patrón estable, caracterizado por una menor variabilidad y los niveles de expresión entre los organismos. Estos resultados pueden ser atribuidos a la dilución de los metales



pesados por las inundaciones (Zhou et al., 2022). En el bagre africano se reportaron resultados similares a la tendencia de una menor expresión de *MT* durante la época de lluvias (M'kandawire et al., 2017). En RA-G y Bit-G el comportamiento entre temporadas también fue muy variable. Las implicaciones de los niveles de expresión bajos y estables del gen *MT2* en CL-U en el hígado de carpas durante las lluvias, sugiere un periodo de bajo estrés ambiental por metales pesados. Lo anterior puede atribuirse a fuertes precipitaciones que probablemente diluyen estos contaminantes disminuyendo la disponibilidad de los metales pesados en este sitio.

Implicaciones ecológicas

Los hallazgos de este estudio sugieren que los organismos de las localidades de la subcuenca baja del Grijalva (RA-G y Bit-G) están sometidos a una mayor presión de contaminantes, detectables a nivel molecular mediante la activación de rutas de detoxificación de metales pesados (*MT2*) y biotransformación de xenobióticos orgánicos (*CYP1A*). La coherencia entre la caracterización ambiental de los sitios y la respuesta transcripcional fortalece la validez de estos biomarcadores como herramientas de monitoreo temprano de los organismos acuáticos. Además, validan el uso de la carpa herbívora como un organismo para el biomonitoreo ecotoxicológico de los ecosistemas dulceacuícolas del sur del Golfo de México.



Referencias citadas

- Abumourad IMK, Abbas WT, Authman MMN, Girgis SM (2014). Environmental impact of heavy metal pollution on Metallothionein expression in Nile Tilapia. *RJPBCS*, 5(2), 998-1005.
- Andersen, C. L., Jensen, J. L., Ørntoft, T. F. (2004). Normalization of real-time quantitative reverse transcription-PCR data: a model-based variance estimation approach to identify genes suited for normalization, applied to bladder and colon cancer data sets. *Cancer research*, 64(15), 5245-5250.
- Alcérreca-Huerta, J.C., Callejas-Jiménez, M.E., Carrillo, L., Castillo, M.M. (2019). Dam implications on salt-water intrusion and land use within a tropical estuarine environment of the Gulf of Mexico. *Sci. Total Environ.* 652, 1102–1112.
- Ahmed, I., Zakiya, A., Fazio, F. (2022). Effects of aquatic heavy metal intoxication on the level of hematocrit and hemoglobin in fishes: a review. *Frontiers in Environmental Science*, 10, 919204.
- Cardoso-Mohedano, J. G., Canales-Delgadillo, J. C., Machain-Castillo, M. L., Sanchez-Muñoz, W. N., Sanchez-Cabeza, J. A., Esqueda-Lara, K., ... Merino-Ibarra, M. (2022). Contrasting nutrient distributions during dry and rainy seasons in coastal waters of the southern Gulf of Mexico driven by the Grijalva-Usumacinta River discharges. *Marine pollution bulletin*, 178, 113584.
- Castillo-Cruz, Z.G., Medrano-Pérez, O.R. (2023). Geomorphological analysis of the Usumacinta and Grijalva sub-basins in south-eastern Mexico. *Acta Univ*, 33, e3684. <http://doi.org/10.15174.au.2023.3684>.
- Castañeda-Chávez, M.D.R., Emma, D.T., Megchún-García, J.V., García-Saldaña, A. (2021). Hydrocarbons and heavy metals in Ma-cuspana, Tabasco, Mexico: Key stakeholders. *Agro Product*, 14, 113–120.
- Cheung, A. P., Lam, T. H. J., Chan, K. M. (2004). Regulation of Tilapia metallothionein gene expression by heavy metal ions. *Marine Environmental Research*, 58(2-5), 389-394.



- Chi-Coyoc, T., Escalona Segura, G., Vallarino Moncada, A., Vargas Contreras, J. A., Castillo Vela, G. E., Lara Reyna, J. (2016). Plaguicidas organoclorados y anticolinérgicos en ratones silvestres en ecosistemas de humedales costeros del Golfo de México. *Therya*, 7(3), 465-482.
- Christiansen, H. E., Mehinto, A. C., Yu, F., Perry, R. W., Denslow, N. D., Maule, A. G., Mesa, M. G. (2014). Correlation of gene expression and contaminant concentrations in wild largescale suckers: a field-based study. *Science of the total environment*, 484, 379-389.
- de Souza Bery, C. C., dos Santos Gois, A. R., Silva, B. S., da Silva Soares, L., Santos, L. G. G. V., Fonseca, L. C., ... Leao, K. M. M. (2024). Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water of rivers in Sergipe State, Brazil: A comprehensive analysis of sources, spatial and temporal variation, and ecotoxicological risk. *Marine Pollution Bulletin*, 202, 116370.
- Diario Oficial de la Federación (DOF). (2015). Norma Oficial Mexicana NOM-033-SAG/ZOO-2014. Métodos Para dar Muerte a Los Animales Domésticos Y Silvestres. México. Disponible en línea: https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5405210&fecha=26/08/2015#gsc.tab=0 (consultado el 18 de marzo de 2021).
- dos Anjos, N. A., Schulze, T., Brack, W., Val, A. L., Schirmer, K., Scholz, S. (2011). Identification and evaluation of cyp1a transcript expression in fish as molecular biomarker for petroleum contamination in tropical fresh waters ecosystems. *Aquatic toxicology*, 103(1-2), 46-52.
- Fisher, M. A., Oleksiak, M. F. (2007). Convergence and divergence in gene expression among natural populations exposed to pollution. *BMC genomics*, 8(1), 1-10.
- Galay-Burgos, M., Spurgeon, D.J., Weeks, J.M., Stürzenbaum, S.R., Morgan, A.J., Kille, P. (2003). Developing a new method for soil pollution monitoring using molecular genetic biomarkers. *Biomarkers*, 8, 229-239.
- Girgis, S.M., Mabrouk, D.M., Hanna, M.I. et al. (2019). Seasonal assessment of some heavy metal pollution and Metallothionein gene expression in cultured



- Oreochromis niloticus*. *Bull Natl Res Cent*, 43, 131
<https://doi.org/10.1186/s42269-019-0167-x>.
- Gómez-Carrasco, G., Leshner-Gordillo, J. M., Olivera-Gómez, L. D., de la Cruz-Hernández, E., Morales-Vela, B., Pozo-Montuy, G., ...Díaz-López, H. M. (2025). Environmental Stress in Wild Armored Catfish *Pterygoplichthys spp.* Through CYP1A Gene Expression. *Ecologies*, 7(1), 1.
- Gungl, A., Biasin, V., Wilhelm, J., Olschewski, A., Kwapiszewska, G., Marsh, L. M. (2018). Fra2 overexpression in mice leads to non-allergic asthma development in an IL-13 dependent manner. *Frontiers in immunology*, 9, 1-18.
- Gordillo-Chávez, E.J., Mata, E.E., García-Morales, R., Morales, M.A., Villanueva, C., Valdez-Leal, J.D. (2015). Mastofauna del humedal Chaschoc-Sejá en Tabasco, México. *Therya*, 6, 535–544.
- Horton, A., Nygren, A., Diaz-Perera, M., Kummu, M. (2021). Flood severity along the Usumacinta River, Mexico: Identifying the anthropogenic signature of tropical forest conversion. *J. Hydrol. X*, 10, 100072.
- Kadim, M. K., Risjani, Y. (2022). Biomarker for monitoring heavy metal pollution in aquatic environment: An overview toward molecular perspectives. *Emerging contaminants*, 8, 195-205.
- Khan, N., Sultan, A., Rahman, I.U. (2023). Monitoring Stress Biomarkers Anomalies of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*) Valenciennes, 1844) Post-Exposure to Chlorpyrifos. *Int J of Oceanogr Aquac*, 7(3), 000254.
44. Kose, T. A. (2024). Comparison of GAPDH and ACTB As Internal Control for Gene Expression Studies in Different Cancer Cell Lines. *Int. J. Hematol. Oncol.*, 34(3), 140-147.
- Kovacik, A., Helczman, M., Arvay, J., Tomka, M., Snirc, M., Janco, I., ...Massanyi, P. (2024). Microelements, fatty acid profile, and selected biomarkers in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) muscle tissue: Seasonal variations and health risk assessment. *Biological Trace Element Research*, 203(2), 1048-1063.



- Kim, B. M., Rhee, J. S., Hwang, U. K., Seo, J. S., Shin, K. H., Lee, J. S. (2015). Dose-and time-dependent expression of aryl hydrocarbon receptor (AhR) and aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT) in PCB-, B [a] P-, and TBT-exposed intertidal copepod *Tigriopus japonicus*. *Chemosphere*, 120, 398-406.
- Lázaro-Vázquez, A., Castillo, M.M., Jarquín-Sánchez, A., Carrillo, L., Capps, K.A. (2018). Temporal changes in the hydrology and nutrient concentrations of a large tropical river: Anthropogenic influence in the Lower Grijalva River, Mexico. *River Res. Appl.*, 34, 649–660.
- Laino-Guanes, R. M., Bello-Mendoza, R., González-Espinosa, M., Ramírez-Marcial, N., Jiménez-Otárola, F., Musálem-Castillejos, K. (2015). Concentración de metales en agua y sedimentos de la cuenca alta del río Grijalva, frontera México-Guatemala. *Tecnología y ciencias del agua*, 6(4), 61-74.
- López-Jiménez, L. N., Jiménez-López, D. A., Castillo-Acosta, O., Gallardo-Cruz, J. A., & Fernández-Montes de Oca, A. I. (2020). Plantas vasculares de la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla, México. *Botanical Sciences*, 98(1), 159-204.
- Mendoza-Carranza, M., Sepúlveda-Lozada, A., Dias-Ferreira, C., Geissen, V. (2016). Distribution and bioconcentration of heavy metals in a tropical aquatic food web: A case study of a tropical estuarine lagoon in SE Mexico. *Environ. Pollut.*, 210, 155–165. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.12.014>
- Mendoza, A., Berezowsky, M., Caballero, C., Arganis-Juárez, M. (2022). Alteration of the flow distribution at a river bifurcation caused by a system of upstream dams: Case of the Grijalva River basin, Mexico. *ESPL.*, 47, 509–521.
- M'kandawire, E., Mierek-Adamska, A., Stürzenbaum, S. R., Choongo, K., Yabe, J., Mwase, M., ... Blindauer, C. A. (2017). Metallothionein from wild populations of the African Catfish *Clarias gariepinus*: from sequence, protein expression and metal binding properties to transcriptional biomarker of metal pollution. *International journal of molecular sciences*, 18(7), 1548.
- Moffat, I., Chepelev, N. L., Labib, S., Bourdon-Lacombe, J., Kuo, B., Buick, J. K., ... Yauk, C. L. (2015). Comparison of toxicogenomics and traditional approaches



- to inform mode of action and points of departure in human health risk assessment of benzo [a] pyrene in drinking water. *Critical reviews in toxicology*, 45(1), 1-43.
- Musálem-Castillejos, K., Laino-Guanes, R., Bello-Mendoza, R., González-Espinosa, M., Ramírez-Marcial, N. (2018). Water quality of the Grijalva river on the Chiapas-Tabasco border. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 5(13), 55-64.
- Nambiar, S. P., Pillai, D., Nair, S. N., Krishnan, R. (2025). Ecotoxicological significance of cytochrome P450 in fish encompassing xenobiotic detoxification and physiological regulation. *Discover Biotechnology*, 2(1), 38.
- Oleksiak, M. F. (2008). Changes in gene expression due to chronic exposure to environmental pollutants. *Aquatic Toxicology*, 90(3), 161-171.
- Pfaffl, M. W., Tichopad, A., Prgomet, C., Neuvians, T. P. (2004). Determination of stable housekeeping genes, differentially regulated target genes and sample integrity: BestKeeper–Excel-based tool using pair-wise correlations. *Biotechnology letters*, 26(6), 509-515.
- Plascencia-Vargas, J.H., González-Espinosa, M., Ramírez-Marcial, N., Álvarez-Solís, D., Musálem-Castillejos, K. (2014). Características físico-bióticas de la cuenca del río Grijalva. In Montañas, Pueblos Y Aguas. Dimensiones Y Realidades de la Cuenca Grijalva, 1st ed., González-Espinosa, M., Brunel-Manse, M.C., Eds.; ECOSUR: Tabasco, México, pp. 29–79.
- Ponce-Vélez, G., de la Lanza-Espino, G. (2019). Organophosphate pesticides in coastal lagoon of the Gulf of Mexico. *Journal of Environmental Protection*, 10(2), 103-117.
- Quirós, L., Jarque, S., Lackner, R., Fernández, P., Grimalt, J. O., Piña, B. (2007). Physiological response to persistent organic pollutants in fish from mountain lakes: analysis of Cyp1A gene expression in natural populations of *Salmo trutta*. *Environmental science and technology*, 41(14), 5154-5160.
- Rahman, M.S., Thomas, P. (2012). Effects of hypoxia exposure on hepatic cytochrome P450 1A (CYP1A) expression in Atlantic croaker: molecular mechanisms of CYP1A down-regulation. *PloS One*, 7, e40825.



- Rahman, M. S., Thomas, P. (2018). Molecular cloning and characterization of two ARNT (ARNT-1 and ARNT-2) genes in Atlantic croaker and their expression during coexposure to hypoxia and PCB77. *Environmental toxicology*, 34(2), 160-171.
- Ruiz-Fernández, A. C., Portela, J. M. B., Sericano, J. L., Sanchez-Cabeza, J. A., Espinosa, L. F., Cardoso-Mohedano, J. G., ... Tinoco, J. A. G. (2016). Coexisting sea-based and land-based sources of contamination by PAHs in the continental shelf sediments of Coatzacoalcos River discharge area (Gulf of Mexico). *Chemosphere*, 144, 591-598.
- Ruiz-Fernández, A. C., Sanchez-Cabeza, J. A., Pérez-Bernal, L. H., & Gracia, A. (2019). Spatial and temporal distribution of heavy metal concentrations and enrichment in the southern Gulf of Mexico. *Science of the total environment*, 651, 3174-3186.
- Sánchez-Munguía, A. (2005). Uso del suelo agropecuario y deforestación en Tabasco 1950-2000 (123 pp.). Villahermosa, México: División Académica de Ciencias Biológicas. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
- Silver, N., Best, S., Jiang, J., Thein, S. L. (2006). Selection of housekeeping genes for gene expression studies in human reticulocytes using real-time PCR. *BMC molecular biology*, 7(1), 33.
- Tlenshieva, A. M., Witeska, M., Shalakhmetova, T. M. (2022). Genotoxic and histopathological effects of the Ili River (Kazakhstan) water pollution on the grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Environmental Pollutants and Bioavailability*, 34(1), 297–307. <https://doi.org/10.1080/26395940.2022.2101544>
- Tian, S., Pan, L., Sun, X. (2013). An investigation of endocrine disrupting effects and toxic mechanisms modulated by benzo [a] pyrene in female scallop *Chlamys farreri*. *Aquatic Toxicology*, 144, 162-171.
- Toni, L. S., Garcia, A. M., Jeffrey, D. A., Jiang, X., Stauffer, B. L., Miyamoto, S. D., & Sucharov, C. C. (2018). Optimization of phenol-chloroform RNA extraction. *MethodsX*, 5, 599-608.



- Thomas RS, Rango DR, P SG, Zastrow GM, Hayes KR, Pande K, Glover E, Silander T, Craven MW, Reddy JK, Jovanovich SB, Bradfield CA. (2001) Identificación de conjuntos de genes predictivos toxicológicamente mediante microarrays de ADNc. *Farmacología molecular*. 60: 1189-1194.
- Vázquez-Aguilar, C., Florido-Araujo, R.A., Nuñez-Lara, E. (2016). Evaluación de la condición ecológica de tres ambientes del humedal Chaschoc, cuenca del río Usumacinta, estimada a partir de tres grupos faunísticos y el índice de integridad biótica. In *III Congreso Sobre Los Recursos Acuáticos del Golfo de México Y Mar Caribe*; Amador-del Angel, L.E., López-Contreras, J.E., Endañu-Huerta, E., Eds.; UNACAR: Campeche, México, pp. 26–27.
- Viarengo, A., Ponzano, E., Dondero, F., Fabbri, R. (1997). A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms: an application to Mediterranean and Antarctic molluscs. *Marine environmental research*, 44(1), 69-84.
- Vogel, C. F., Van Winkle, L. S., Esser, C., Haarmann-Stemmann, T. (2020). The aryl hydrocarbon receptor as a target of environmental stressors—Implications for pollution mediated stress and inflammatory responses. *Redox biology*, 34, 101530.
- Wills, L. P., Matson, C. W., Landon, C. D., Di Giulio, R. T. (2010). Characterization of the recalcitrant CYP1 phenotype found in Atlantic killifish (*Fundulus heteroclitus*) inhabiting a Superfund site on the Elizabeth River, VA. *Aquatic toxicology*, 99(1), 33-41.
- Williams, R., Taggart, T., Ganger, K., Koetsier, T., Johnson, S., Dinchman, A. (2022). CYP1A expression in freshwater fish of western New York as an indicator of pollution levels. *Ecology and Evolution*, 12(1), e8526.
- Yang, R., Roshani, D., Gao, B., Li, P., Shang, N. (2024). Metallothionein: a comprehensive review of its classification, structure, biological functions, and applications. *Antioxidants*, 13(7), 825.
- Zapata-Pérez, O., Sanchez-Teyer, L. F., Perez-Nunez, M. T., Arroyo-Herrera, A. L., Moreno, A. Q., Albores-Medina, A. (2010). Response of CYP1A Gene expression in fish liver of catfish (*Ariopsis felis*) from Gulf of Mexico and their



- relationship with the genetic variability. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 45(1), 62-67.
- Xie, F., Xiao, P., Chen, D., Xu, L., Zhang, B. (2012). miRDeepFinder: a miRNA analysis tool for deep sequencing of plant small RNAs. *Plant molecular biology*, 80(1), 75-84.
- Zhou, M., Wu, S., Zhang, Z., Aihemaiti, Y., Yang, L., Shao, Y., ... Zheng, G. (2022). Dilution or enrichment: the effects of flood on pollutants in urban rivers. *Environmental Sciences Europe*, 34(1), 61.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
México



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

CAPÍTULO V.

COMPARACIÓN DE LOS PATRONES DE EXPRESIÓN GENÉTICA ENTRE PECES Y MANATÍES Y ENTRE LOS SITIOS DE ESTUDIO: IMPLICACIONES PARA LA CONSERVACIÓN



En esta tesis doctoral se realizó una comparación de la expresión de genes implicados en el metabolismo de xenobióticos en diferentes especies de vertebrados, peces y mamíferos. La especie de interés, que motivo esta investigación fue el manatí (*Trichechus manatus manatus*). Además, se decidió incluir dos especies de peces (*Pterygoplichthys spp.*, y *Ctenopharyngodon idella*), en estas especies también se han reportado eventos de mortandad masiva inusual.

Debido a la limitada disponibilidad de información genética para *Pterygoplichthys spp.*, en los bancos de secuencias genéticas del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI), únicamente el gen *CYP1A* fue evaluado en las tres especies.

Comparación de los patrones de expresión entre especies

En lo que respecta al gen *CYP1A* los resultados obtenidos en *C. idella* y *Pterygoplichthys spp.*, reflejaron un patrón de expresión génica similar entre ellas, con mayor expresión y con diferencias estadísticas en RA-G, seguidos por Bit-G en el caso de *C. idella*, contrario a lo anterior, en la población de manatíes de GRB, se observaron niveles de expresión bajos y con menos variables entre sí.

Aunque la secuencia del gen *CYP1A* se mantiene conservada, el procesamiento metabólico de xenobióticos sigue patrones distintos en cada una de las especies evaluadas. Las diferencias funcionales entre peces y manatíes influyen directamente en la bioacumulación de contaminantes y en la esperanza de vida de los organismos. En consecuencia, la expresión génica no es rigurosamente equiparable entre las especies, esto debido a que los mecanismos de regulación genética se llevan a cabo bajo regímenes metabólicos distintos. No obstante, está demostrado que las propiedades y la inducción de *CYP1A* en los peces es similar a la de los mamíferos (Goksøyr y Förlin, 1992). Además, desde la perspectiva que los peces son más sensibles a la contaminación que los mamíferos, los resultados de alta expresión en RA-G similares en el bagre y la carpa, confirman la presencia de



contaminación en este caso por HAPs y sus derivados en la cuenca baja del río Grijalva.

De acuerdo con los resultados obtenidos de los peces, se presentan dos hipótesis relacionadas con la expresión de *CYP1A1* en la población de manatíes de GRB. (1) disminución de la capacidad de respuesta para eliminar los tóxicos que inducen la expresión de *CYP1A1*. (2) represión de la vía metabólica para eliminar los compuestos tóxicos que promueven la expresión de este gen, ante elevados niveles de hipoxia. Esta última, concuerda con la correlación negativa registrada entre la actividad del gen *ARNT* y la de *CYP1A1*, tal y como se describió en el capítulo III. Al provenir las muestras de GRB de un evento de mortandad masiva de manatíes, la baja expresión encontrada de este gen puede deberse a daño hepático (consultar la sección de discusión del capítulo III). Esto porque se ha evidenciado que el daño hepático disminuye la expresión de *CYP1A1* en otros mamíferos (Li et al., 2017). Cualquiera de las dos hipótesis planteadas presenta implicaciones desfavorables para la salud y el futuro de esta población de manatíes. Estos resultados en GRB, podrían asociarse a la baja diversidad genética reportada para el Golfo de México (Gómez-Carrasco et al., 2018; Nourisson et al., 2011). Las consecuencias de una baja diversidad genética se traducen en una reducción de la capacidad de los organismos para responder a los cambios ambientales (Frankham et al., 2004).

En el caso de la población de manatíes de ChB cuando se comparan los resultados con la población de manatíes de GRB, encontramos diferencias entre estas. En referencia con el gen *CYP1A1*, los patrones de expresión fueron más altos, pero con mucha variación entre los organismos, esto refleja que a pesar de la menor contaminación en ChB, esta zona no está exenta de la presencia de HAPs y agroquímicos. Los animales analizados de ChB provienen de distintas zonas de la bahía. La variación encontrada en la expresión genética de ChB, puede estar asociada a diferentes niveles de contaminación en este sitio, ya que se han reportado mayores niveles de contaminación por HAPs en la parte Sur de ChB en comparación con el Norte (Álvarez-Legorreta y Sáenz-Morales, 2005). Una fuente



adicional de contaminación por HAPs son las descargas residuales de la ciudad de Chetumal, que fluyen principalmente hacia la parte sur de la bahía, comprometiendo la calidad del agua (Álvarez-Legorreta y Sáenz-Morales, 2005). Asimismo, los escurrimientos de los ríos Hondo y Nuevo también arrastran este tipo de contaminantes al sur de ChB. En conclusión, a pesar de tener mayor expresión del gen *CYP1A1* en ChB, en comparación con GRB, esto indica que los manatíes de ChB cuentan con una respuesta biológica eficiente ante la presencia de sustancias tóxicas, lo que apunta a una población sana. No obstante, es fundamental mantener la supervisión constante de este grupo y establecer políticas que limiten el impacto de los contaminantes en su hábitat.

De manera global, la actividad del gen *CYP1A1* confirmó la exposición a los HAPs en la totalidad de las especies estudiadas, independientemente de que los niveles de expresión fueran elevados o bajos. La exposición a hidrocarburos en algunos mamíferos se ha relacionado con problemas fisiológicos tales como bajo éxito reproductivo, reducción en la concentración de testosterona, baja tasa de supervivencia, enfermedad pulmonar y niveles bajos de hormonas del estrés (Schwacke et al., 2014; Lane et al., 2015). Por lo tanto, es necesario implementar medidas de manejo y conservación para las poblaciones de manatíes en México basadas en los resultados de esta investigación.

Con el gen *ARNT* fue posible una comparación entre *C. idella* y *T. m. manatus*. La carpa exhibió una expresión baja de *ARNT* y alta de *CYP1A*, patrón similar al de los manatíes de ChB y cautiverio. En contraste, la población de GRB mostró una relación inversa: *ARNT* elevado y *CYP1A1* disminuido. Estos hallazgos refuerzan la hipótesis de represión de la vía metabólica para eliminar tóxicos en GRB (tal y como se describió en el capítulo III).

El gen *MT2* se evaluó en *C. idella* y *T. m. manatus*. Aunque los resultados en carpa no fueron significativos, fue evidente la mayor expresión de este gen en RA-G y Bit-G en *C. idella*, en comparación con el sitio de menor contaminación CL-U. En los



manatíes de GRB la actividad de este gen fue notoriamente alta, con una diferencia estadística clara en comparación con las poblaciones restantes, mientras que en ChB y el grupo de cautiverio fueron muy bajos y constantes. En carpa, aun sin diferencias significativas entre poblaciones, las tendencias observadas en la expresión genética son consistentes con la mayor carga de metales pesados previamente reportada (Pérez-Cruz et al., 2013; Mendoza-Carranza et al., 2016) para la cuenca del Río Grijalva en comparación con CL-U y ChB.

Una de las formas en que los manatíes están expuestos a los metales pesados y a otros tóxicos es a través de su alimentación. Las plantas sumergidas y sus biopelículas tienen la capacidad de acumular significativamente elementos potencialmente tóxicos del entorno circundante (Chen et al., 2015; Török et al., 2015; Geng et al., 2019), procedentes de fuentes domésticas, industriales y agrícolas (Yang et al., 2018). Las especies *Echinochloa polystachya* (pasto alemán) y *Eichhornia crassipes* (lirio acuático) son frecuentes en la dieta del manatí en el Golfo de México (Ponce-García et al., 2017). Se ha reportado que la especie *Eichhornia crassipes* tiene una alta capacidad para bioacumular metales pesados (Fawzy et al., 2012). A la especie *Echinochloa polystachya* se le atribuye la capacidad de bioacumular cadmio (Solís-Domínguez et al., 2007) así como su tolerancia frente a la contaminación con petróleo (Lopes y Piedade, 2009; da Silva Correa y Maranhão, 2021). Considerando que los manatíes consumen del 5 al 10% de su peso corporal en plantas al día (Reep y Bonde, 2006), el consumir grandes cantidades de plantas al día puede llevarlos a bioacumular elevadas cantidades de metales pesados y con una exposición crónica a estos, poniendo en riesgo su salud. El evento de mortandad masiva de los manatíes en 2018 involucró también a las especies *Ctenopharyngodon idella* y *Pterygoplichthys* spp. (Morales-Vela et al., 2018) las cuales cohabitan con los manatíes. La alimentación a base de plantas acuáticas y con los biofilms acumulados en sus rizomas y hojas, es una característica básica que comparten estas especies.



De acuerdo con lo anterior, la exposición crónica a metales pesados por medio de la alimentación en la población de manatíes de GRB, compromete su salud, ya que la toxicidad por metales pesados se asocia con daño renal, daños en el sistema reproductivo, inmunológico, la reducción del tamaño corporal y la disminución de la densidad ósea en algunos roedores y conejos (Beiglböck et al., 2002; Goyer et al., 1970; Escribano et al., 1997; Gruber et al., 1997; Toman et al., 1999; Velickovic et al., 2007; Jakimska et al., 2011). La expresión de metales pesados en los ejemplares de GRB revela un escenario preocupante para su supervivencia. En consecuencia, urge aplicar medidas de manejo inmediato en la cuenca del Río Grijalva que mitiguen la contaminación y garanticen la preservación de los manatíes y de la biodiversidad acompañante.

El gen *GSTP1-1*, se evaluó en las poblaciones de manatíes la expresión observada no presenta diferencias estadísticas, no obstante, en ChB y cautiverio la expresión fue ligeramente mayor, esto concuerda con la expresión de *CYP1A1* (*GSTP1-1* y *CYP1A1* deben presentar una expresión similar), mientras que en la población de GRB se obtuvo una menor expresión en este gen. Estos resultados en GRB, son críticos ya que, la disminución del gen *GSTP1-1* reduce la función de desintoxicación contra toxinas y se relaciona con una exposición aguda a contaminantes (Bocedi et al., 2023).

El Golfo de México, es una zona petrolera y con refinerías, por lo que a futuro los niveles de contaminación se incrementaran, lo que se traduce a una exposición crónica a diversos tóxicos de los manatíes y las especies con las que comparte hábitat en el futuro. La falta de regulación de las leyes ambientales en el país es un problema importante que limita la recuperación de las poblaciones de manatíes. Las descargas de aguas residuales sin tratar representan un gran porcentaje de la contaminación en los ecosistemas acuáticos, tanto en el Golfo de México como en el Caribe mexicano (Álvarez-Legorreta y Sáenz-Morales, 2005; Barrientos-Pérez et al., 2022). Por lo anterior, se debe regular y abordar esta problemática, para reducir



la exposición de los manatíes a contaminantes en toda su área de distribución en México, así como de las especies con las que comparte hábitat.

Referencias citadas

- Álvarez-Legorreta, T., Sáenz Morales, R. (2005). Hidrocarburos aromáticos policíclicos en sedimentos de la bahía de Chetumal, p. 299-310. In: A. V. Botello, J. Rendón-von Osten, G. Gold-Bouchot y C. Agraz-Hernández (Eds.). Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias, 2da Edición. Universidad. Autónoma de Campeche, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología. 696 p.
- Barrientos-Pérez, A. A., Castillo, M. M., Mendoza-Carranza, M., Jarquín-Sánchez, A. (2022). Developing nutrient criteria for the Grijalva Basin, Mexico. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 38, 493–510.
- Beiglböck, C., Steineck, T., Tataruch, F., Ruf, T. (2002). Environmental cadmium induces histopathological changes in kidneys of roe deer. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 21(9), 1811-1816.
- Bocedi, A., Gambardella, G., Cattani, G., Notari, S., Pedersen, J. Z., Ricci, G. (2023). Erythrocyte glutathione transferase P1-1 as a biomarker in environmental toxicology: A new narrative. In Patel, V. B., Preedy, V. R., Rajendram, R. (Eds.). In Biomarkers in toxicology (pp. 415-437). Springer International Publishing.
- Chen, G., Liu, X., Brookes, P. C., Xu, J. (2015). Opportunities for phytoremediation and bioindication of arsenic contaminated water using a submerged aquatic plant: *Vallisneria natans* (Lour.) Hara. *International journal of phytoremediation*, 17(3), 249-255.
- da Silva Correa, H., Maranhão, L. T. (2021). The potential association of *Echinochloa polystachya* (Kunth) Hitchc. with bacterial consortium for petroleum degradation in contaminated soil. *SN Applied Sciences*, 3(1), 80.



- Escribano, A., Revilla, M., Hernandez, E. R., Seco, C., Gonzalez-Riola, J., Villa, L. F., Rico, H. (1997). Effect of lead on bone development and bone mass: a morphometric, densitometric, and histomorphometric study in growing rats. *Calcified tissue international*, 60, 200-203.
- Fawzy, M. A., Badr, N. E. S., El-Khatib, A., Abo-El-Kassem, A. (2012). Heavy metal biomonitoring and phytoremediation potentialities of aquatic macrophytes in River Nile. *Environmental monitoring and Assessment*, 184, 1753-1771.
- Frankham, R., Ballou, J. D., Briscoe, D. A. (2004). A primer of conservation genetics. Cambridge University Press.
- Geng, N., Wu, Y., Zhang, M., Tsang, D. C., Rinklebe, J., Xia, Y., Lu, D., Zhu, L., Palansooriya, K. N., Kim, K. H, Ok, Y. S. (2019). Bioaccumulation of potentially toxic elements by submerged plants and biofilms: A critical review. *Environment international*, 131, 105015.
- Goksøyr, A., Förlin, L. (1992). The cytochrome P-450 system in fish, aquatic toxicology and environmental monitoring. *Aquatic toxicology*, 22(4), 287-311.
- Gómez-Carrasco, G., Leshner-Gordillo, J.M., Olivera-Gómez. L.D, Bonde, R. K., Arriaga-Weiss, S., Hernández-Martínez, R., Castañón-Nájera, G., Jiménez-Domínguez, D., Romo-López, A., Delgado-Estrella, A. (2018). Genetic Diversity and Structure from Antillean Manatee (*Trichechus manatus manatus*) in the Southern Gulf of México: Comparison Between Connected and Isolated Populations. *Tropical Conservation Science*, 11. <https://doi.org/10.1177/1940082918795560>.
- Goyer, R. A., Leonard, D. L., Moore, J. F., Rhyne, B., Krigman, M. R. (1970). Lead dosage and the role of the intranuclear inclusion body. *Archives of Environmental Health: An International Journal*, 20(6), 705-711.
- Gruber, H. E., Gonick, H. C., Khalil-Manesh, F., Sanchez, T. V., Motsinger, S., Meyer, M., Sharp, C. F. (1997). Osteopenia induced by long-term, low-and high-level exposure of the adult rat to lead. *Mineral and electrolyte metabolism*, 23(2), 65-73.



- Jakimska, A., Konieczka, P., Skóra, K., Namieśnik, J. (2011). Bioaccumulation of metals in tissues of marine animals, Part I: The role and impact of heavy metals on organisms. *Polish Journal of Environmental Studies*, 20(5).
- Lane, S. M., Smith, C. R., Mitchell, J., Balmer, B. C., Barry, K. P., McDonald, T., ... Schwacke, L. H. (2015). Reproductive outcome and survival of common bottlenose dolphins sampled in Barataria Bay, Louisiana, USA, following the Deepwater Horizon oil spill. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1818), 20151944.
- Li, Y., Li, Y., Zheng, G., Zhu, L., Wang, J., Mu, S., ... Feng, F. (2018). Cytochrome P450 1A1 and 1B1 promoter CpG island methylation regulates rat liver injury induced by isoniazid. *Molecular medicine reports*, 17(1), 753-762.
- Lopes, A., Piedade, M. T. F. (2009). Estabelecimento de *Echinochloa polystachya* (H.B.K.) Hitchcock (Poaceae) em solo de várzea contaminado com petróleo de Urucu. *Acta Amazonica*, 39, 583-590.
- Mendoza-Carranza, M., Sepúlveda-Lozada, A., Dias-Ferreira, C., Geissen, V. (2016). Distribution and bioconcentration of heavy metals in a tropical aquatic food web: A case study of a tropical estuarine lagoon in SE Mexico. *Environmental Pollution*, 210, 155-165.
- Morales-Vela, B., Olivera-Gómez L.D., Jiménez-Domínguez, D. (2018). Unusual mortality event of manatees in a freshwater basin ecosystem in the Southern Gulf of Mexico. *Sirenews, Newsletter of the IUCN/SSC Sirenia Specialist Group* 68: 10-12. <https://www.cmaquarium.org/app/uploads/2019/02/Sirenews-68-Dec-2018.pdf>.
- Nourisson, C., Morales-Vela, B., Padilla-Saldívar, J., Tucker, K. P., Clark, A., Olivera-Gómez, L. D., ... McGuire, P. (2011). Evidence of two genetic clusters of manatees with low genetic diversity in Mexico and implications for their conservation. *Genetica*, 139(7), 833-842.
- Pérez-Cruz, Y. G., Rangel-Ruiz, L. J., Gamboa-Aguilar, J. (2013). Metales en almejas y sedimentos en la Reserva de la Biósfera " Pantanos de Centla" Tabasco, México. *Hidrobiológica*, 23(1), 01-08



- Ponce-García, G., Olivera-Gómez, L. D., Solano, E. (2017). Analysis of the plant composition of manatee (*Trichechus manatus manatus*) faeces in a lake in south-eastern México. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 27(4), 797-803.
- Reep, R. L., Bonde, R. K. (2006). *The Florida Manatee: Biology and Conservation*. University Press of Florida.
- Solís-Domínguez, F. A., González-Chávez, M. C., Carrillo-González, R., & Rodríguez-Vázquez, R. (2007). Accumulation and localization of cadmium in *Echinochloa polystachya* grown within a hydroponic system. *Journal of hazardous materials*, 141(3), 630-636.
- Schwacke, L. H., Smith, C. R., Townsend, F. I., Wells, R. S., Hart, L. B., Balmer, B. C., ... Rowles, T. K. (2014). Health of common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in Barataria Bay, Louisiana, following the Deepwater Horizon oil spill. *Environmental science and technology*, 48(1), 93-103.
- Toman, R., Massányi, P., Kováčik, J. (1999). Growth and reproductive ability of male rabbits after cadmium intake from diet. *Folia Veterinaria*, 43 (4), 182-185.
- Török, A., Gulyás, Z., Szalai, G., Kocsy, G., Majdik, C. (2015). Phytoremediation capacity of aquatic plants is associated with the degree of phytochelatin polymerization. *Journal of hazardous materials*, 299, 371-378.
- Velickovic, M. (2007). Measures of the developmental stability, body size and body condition in the black-striped mouse (*Apodemus agrarius*) as indicators of a disturbed environment in northern Serbia. *Belgian Journal of Zoology*, 137(2), 147.
- Viana, L.F., Suárez, Y.R., Cardoso, C.A.L., Crispim, B.D.A., Grisolia, A.B., Lima-Junior, S.E. (2017). Mutagenic and genotoxic effects and metal contaminations in fish of the Amambai River, Upper Paraná River, Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(35), 27104-27112.
- Yang, X., Igalavithana, A.D., Oh, S.E., Nam, H., Zhang, M., Wang, C.H., Kwon, E. E., Tsang, D.C.W., Ok, Y.S. (2018). Characterization of bioenergy biochar and its utilization for metal/metalloid immobilization in contaminated soil. *Science of the Total Environment*, 640, 704-713.



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

CAPÍTULO VI.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES



Este trabajo de tesis generó información relevante sobre los manatíes, relacionadas a su metabolismo de desintoxicación a partir del análisis de expresión en diferentes genes como respuesta a la exposición a estresores ambientales. Además, se evaluó la posible relación de este metabolismo con especies de peces que comparten hábitat con el manatí. Los resultados obtenidos en esta investigación permitieron responder las preguntas de investigación planteadas. Asimismo, los datos generados en este trabajo servirán para robustecer y desarrollar mejores esfuerzos de conservación de esta subespecie en peligro de extinción.

Conclusiones de acuerdo con los objetivos planteados en esta tesis:

1. Patrones de expresión genética de *CYP1A* en *Pterygoplichthys spp.*, durante la estación seca y de lluvias.

Se identificó un patrón de alta expresión de este gen en la localidad RA-G de forma general, durante la temporada de lluvias. Esta localidad es el área con mayor contaminación reportada de los sitios que fueron evaluados, lo cual evidencia la exposición crónica de estos organismos a los HAPs.

Con este objetivo se respalda la información previa que describen el uso de *Pterygoplichthys spp.* como un bioindicador de sitios contaminados. De igual forma, se sustenta el uso de *CYP1A* como biomarcador centinela para la detección de contaminación por Hidrocarburos aromáticos policíclicos y sus derivados.

Se recomienda para futuros estudios evaluar otros genes implicados en la eliminación de xenobióticos.



2. Patrones de expresión en *Trichechus manatus manatus*.

Se encontraron diferencias de expresión génica entre los genes analizados de las tres diferentes poblaciones evaluadas.

En la población de GRB, se identificó una mayor expresión del gen *MT2* en comparación con ChB y el grupo de cautiverio, lo cual respalda los reportes previos de mayor presencia de metales pesados en huesos de manatíes de GRB en comparación con ChB.

El gen *CYP1A1*, presentó baja expresión en GRB. Estos resultados sustentan la hipótesis planteada, que refiere a que ante altos niveles de estrés ambiental los manatíes disminuyen la expresión de ciertos genes. Estos resultados en los manatíes de GRB sugieren una baja capacidad para eliminar tóxicos.

A pesar de que en las poblaciones de manatíes evaluadas no se presentaron diferencias estadísticas significativas en cuanto a la expresión de *CYP1A1*, en ChB y en los manatíes de cautiverio la expresión de este gen fue mayor que en GRB, lo cual sugiere una respuesta génica adecuada para la eliminación de tóxicos en los manatíes de ChB y cautiverio.

Los patrones de expresión del gen *ARNT* en especial en GRB muestran una correlación negativa con *CYP1A1*. *ARNT* activa dos vías metabólicas: la de xenobióticos (que incluyen la activar *CYP1A1*) y la de la hipoxia, por lo que es posible que un factor (alta presencia de xenobióticos o alta presencia de hipoxia) reprima al otro en condiciones extremas. Lo anterior implica la presencia de condiciones altas de hipoxia en los manatíes de GRB que reprimieron la eliminación de xenobióticos.



En los niveles de expresión del gen *GSTP1-1* no se observaron diferencias significativas. Este resultado es coherente con su participación en la biotransformación de xenobióticos junto al gen *CYP1A1*; de hecho, ambos genes presentan una correlación positiva dentro de dicha ruta metabólica.

3. Patrones de expresión génica en *Ctenopharyngodon idella* en temporadas de secas y lluvias.

En relación con el gen *MT2* en carpa este no mostró diferencias en la expresión, sin embargo, los niveles fueron más altos en RA-G y Bit-G, lo cual es similar a lo encontrado en los manatíes de GRB y respalda la mayor presencia de metales pesados en la cuenca baja del río Grijalva.

La mayor expresión del gen *CYP1A* en *C. idella* se obtuvo en RA-G, seguida de Bit-G lo cual es similar a lo observado en el bagre. Esto refuerza la mayor presencia de HAPs previamente reportada en esta región.

Los patrones de expresión de *ARNT* fueron bajos en esta especie, en las poblaciones analizadas, lo cual tiene sentido con los niveles de expresión altos de *CYP1A*, ya que a mayor expresión de *CYP1A* hay menor expresión de *ARNT*. Esto refleja la correlación que existe entre estos genes y respalda los resultados encontrados en el manatí.

En relación con los resultados de expresión génica obtenidos en las temporadas de secas y lluvias: durante la temporada de lluvias, en la población de CL-U, se observó un patrón de expresión constante y baja en el gen *MT2*, lo cual se asocia con el menor nivel de perturbación por metales pesados, reportado en esta zona.

De igual forma, en la población de RA-G en la temporada de lluvias, el patrón de expresión de *CYP1A* fue mayor y constante entre los organismos, debido



a la mayor presencia de contaminación por hidrocarburos aromáticos policíclicos y sus derivados en esta región. En la temporada de secas no se observó un patrón constante de expresión para ninguno de los genes y en ninguna localidad, pues se presentó una alta variación de expresión entre organismos.

Recomendaciones

Con los resultados obtenidos en esta investigación se considera pertinente el uso del gen de Metalotioneinas (*MT2*) y del gen *CYP1A1* como biomarcadores moleculares robustos en la identificación de metales pesados y HAPs y se recomienda que sean incluidos en el monitoreo ambiental de las poblaciones de manatíes y también de peces.

En futuras investigaciones sobre desintoxicación en las poblaciones de manatíes de GRB, es necesario evaluar la expresión de otros genes implicados en la cascada genética de respuesta a la hipoxia (*HIF*) y genes de la ruta del óxido nítrico sintasa y el estrés oxidativo, con la finalidad de identificar los mecanismos subyacentes con la disminución del gen *CYP1A1*, posiblemente influenciada por la hipoxia celular.

Finalmente, se recomienda la integración de perfiles de expresión génica con análisis químicos cuantitativos de contaminantes, tanto en muestras biológicas como ambientales. Este enfoque multidisciplinario permitirá corroborar los hallazgos moleculares y fortalecer la robustez de los resultados, así como proporcionar una visión integral de la salud ecosistémica en las áreas analizadas.



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México

ANEXOS



Principios bioéticos

Para la recolección de muestras de *Trichechus manatus manatus*, evaluadas en esta investigación, se solicitaron permisos con fines de investigación ante la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Los permisos fueron los siguientes: para la recolecta en el Golfo de México: N.º SGPA/DGVS/008615/18 y para la recolecta en el Caribe (Quintana Roo): N.º SGPA/DGVS/10361/21.

En relación con los peces evaluados en este trabajo *Ctenopharyngodon idella* y *Pterygoplichthys spp.*, estos organismos fueron sacrificados de acuerdo con las indicaciones establecidas en la Norma Oficial Mexicana NOM-033-SAG/ZOO-2014.



Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional	
Título de Tesis:	Expresión genética asociada al estrés ambiental en los organismos acuáticos, <i>Trichechus manatus manatus</i> y peces herbívoros que comparten ecosistema
Autora de la Tesis:	Guadalupe Gómez Carrasco
ORCID:	0000-0001-6943-9204
Resumen de la Tesis:	<p>En México la subespecie <i>Trichechus manatus manatus</i>, se encuentra en peligro de extinción. En el estado de Tabasco, se presentó una mortandad inusual de manatíes, donde al menos 48 organismos murieron y asociada también con la muerte de los peces carpa herbívora y el pez diablo. La causa exacta de muerte no fue definida en su totalidad. El objetivo de este trabajo fue comparar la expresión de los genes de interés <i>CYP1A</i>, <i>ARNT</i>, <i>MT2</i> y <i>GSTP1-1</i>, en poblaciones de manatíes de algunas regiones de México y dos especies de peces herbívoros que comparten hábitat, como biomarcadores de estrés ambiental. Se aisló ARN de muestras de hígado en los peces y en manatíes se analizaron muestras de sangre, piel e hígado. Se usó PCR cuantitativa para los análisis de expresión génica. La expresión del gen <i>MT2</i> en las poblaciones de manatíes mostró diferencias significativas entre los sitios de estudio; la población de la subcuenca del río Grijalva (GRB) presentó los niveles más altos; por el contrario, en los peces, este gen no exhibió variaciones importantes entre las localidades evaluadas. El gen <i>CYP1A</i> se expresó significativamente en carpas y peces diablo de la subcuenca del río Grijalva (RA-G y Bit-G), a diferencia de los manatíes, donde no se observaron valores significativos. Se propone el uso de los biomarcadores moleculares validados en este trabajo, para el biomonitoreo ambiental de las poblaciones de manatíes en México y de las especies con las que comparte hábitat. Además, se recomienda el uso de los peces analizados en este estudio como bioindicadores de estrés ambiental.</p>



<p>Palabras claves de la Tesis:</p>	<p>Manatí, carpa herbívora, pez diablo, Bahía Chetumal, Cuenca Grijalva-Usumacinta, expresión genética, desintoxicación celular, contaminación, hidrocarburos aromáticos policíclicos, metales pesados.</p>
<p>Referencias citadas:</p>	<p>Ahner, B. A., Wei, L., Oleson, J. R., Ogura, N. (2002). Glutathione and other low molecular weight thiols in marine phytoplankton under metal stress. <i>Marine ecology progress series</i>, 232, 93-103.</p> <p>Almazroo, O. A., Miah, M. K., Venkataramanan, R. (2017). Drug metabolism in the liver. <i>Clinics in liver disease</i>, 21(1), 1-20.</p> <p>Armbruster, J. W. (1998). Modifications of the digestive tract for holding air in loricatoriid and scoloplacid catfishes. <i>Copeia</i>, 663-675.</p> <p>Andersen, C. L., Jensen, J. L., Ørntoft, T. F. (2004). Normalization of real-time quantitative reverse transcription-PCR data: a model-based variance estimation approach to identify genes suited for normalization, applied to bladder and colon cancer data sets. <i>Cancer research</i>, 64(15), 5245-5250.</p> <p>Awasthi, Y. C., Sharma, R., Singhal, S. S. (1994). Human glutathione S-transferases. <i>International Journal of Biochemistry</i>, 26(3), 295-308.</p> <p>Baensch, H.A., Riehl, R. (1985). <i>Aquarien atlas</i>. Band 2. Mergus, Verlag für Natur- und Heimtierkunde GmbH, Melle Germany, 1 216 pp.</p> <p>Barba, E. (2005). Registro de <i>Hypostomus</i> sp. (Linnaeus, 1758) (Pisces: Loricariidae) en la cuenca del Grijalva -Usumacinta, Tabasco. 3er Congreso de la Asociación Mexicana de Limnología A. C. octubre 26-28, 2005, UJAT, Villahermosa, Tabasco, México.</p> <p>Bocedi, A., Fabrini, R., Lai, O., Alfieri, L., Roncoroni, C., Noce, A., ... & Ricci, G. (2016). Erythrocyte glutathione transferase: a general probe for chemical contaminations in mammals. <i>Cell death discovery</i>, 2(1), 1-5.</p> <p>Bocedi, A., Noce, A., Marrone, G., Noce, G., Cattani, G., Gambardella, G., ...Ricci, G. (2019). Glutathione transferase P1-1 an enzyme useful in biomedicine and as biomarker in clinical practice and in environmental pollution. <i>Nutrients</i>, 11(8), 1741.</p>



Bonde, R.K., Aguirre, AA., Powell, J. (2004). Manatees as sentinels of marine ecosystem health: Are they the 2000-pound canaries? *EcoHealth*, 1, 255–262.

Bonde, R.K., McGuire, P. M., Hunter, M. E. (2012). A review of the key genetic tools to assist imperiled species conservation: analyzing West Indian manatee populations. *J Mar Anim Their Ecol*, 5, 8-19.

Bowen, L., Miles, A. K., Ballachey, B., Waters, S., Bodkin, J. (2016). Gene transcript profiling in sea otters post-Exxon Valdez oil spill: A tool for marine ecosystem health assessment. *Journal of Marine Science and Engineering*, 4(2), 39.

Chaichana, R., Pouangcharean, S., Yoonphand, R. (2011). Habitat, abundance and diet of invasive suckermouth armored catfish (Loricariidae *Pterygoplichthys*) in the Nong Yai Canal, East Thailand. *Tropical Zoology*, 24(1).

Chávez, H. M., Casao, E. A., Villanueva, E. P., Paras, M. P., Guinto, M. C., Mosqueda, M. B. (2006). Heavy metal and microbial analyses of janitor fish (*Pterygoplichthys* spp.) in Laguna de Bay, Philippines. *Journal of environmental science and management*, 9(2).

Dessi, M., Noce, A., Dawood, K. F., Galli, F., Taccone-Gallucci, M., Fabrini, R., Bocedi, A., Massoud, R., Fucci, G., Pastore, A., di Villahermosa, S. M., Zingaretti, V., Federici, G., Ricci, G. (2012). Erythrocyte glutathione transferase: a potential new biomarker in chronic kidney diseases which correlates with plasma homocysteine. *Amino Acids*, 43, 347-354.

Deutsch, C.J., Morales-Vela, B. (2024). *Trichechus manatus*. Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN 2024: e.T22103A43792740. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2024-2.RLTS.T22103A43792740.en> . Consultado el 3 de mayo de 2026.

Deutsch, C.J., Valade, J. (2024). *Trichechus manatus* ssp. *latirostris* . Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN 2024: e.T22106A43794045.



<https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2024-2.RLTS.T22106A43794045.en> . Consultado el 3 de mayo de 2026.

Ferrante, J.A., Hunter, M.E., Wellehan, J.F. (2018). Development and validation of quantitative PCR assays to measure cytokine transcript levels in the Florida manatee (*Trichechus manatus latirostris*). *J. Wildl. Dis.* 54, 283-294.

Gómez-Carrasco, G., Leshner-Gordillo, JM., Olivera-Gómez, LD., Bonde, RK., Arriaga-Weiss, S., Hernández-Martínez, R., ... y Delgado-Estrella, A. (2018). Genetic Diversity and Structure From Antillean Manatee (*Trichechus manatus manatus*) in the Southern Gulf of México: Comparison Between Connected and Isolated Populations. *Tropical Conservation Science*, 11, 1940082918795560.

Gorbach, E. I. Kryhtin, M. L. (1988). Migration of the White Amur, *Ctenopharyngodon idella* and Silver Carp *Hypophthalmichthys molitrix*, in the Amur River Basin. *Voprosy Ikhtiologii*, 4, 619-625.

Guengerich, F.P. (2007). Cytochrome p450 and chemical toxicology. *Chemical research in toxicology*, 21(1), 70-83.

Gulland, F. M., Dierauf, L. A. Whitman, K. L. (Eds.). (2018). CRC Handbook of Marine Mammal Medicine. *CRC Press*. 1124 p.

Guzmán, A.F., Barragán, S.J. (1997). Presencia de bagres sudamericanos (*Osteichthyes:Loricariidae*) en el río Mezcala, Guerrero, México. *Vertebrata mexicana*, 3, 1-4.

Haq, F., Mahoney, M., Koropatnick, J. (2003). Signaling events for metallothionein induction. *Mutat Res*, 533(1–2), 211–226.

Hartman, D.S. (1979). Ecology and behavior of the manatee (“*Trichechus manatus*”) in Florida. Ithaka, New York. Special publications (*The American Society Mammalogist*). Doi: <http://dx.doi.org/10.5962/bhl.title.39474>



Higuchi, R., Fockler, C., Dollinger, G., Watson, R. (1993). Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology*, 11(9), 1026-1030.

Hutchings, E. (1998). Biological Weed Control in Alberta Using Triploid Grass Carp. Alberta. Canada. <http://www.agric.gov.ab.ca/research/ari/matching/94-95/94m624.html>.

Juárez-Rebollar, D., Méndez-Armenta, M. (2014). Aspectos funcionales de la metalotioneína en el sistema nervioso central. *Archivos de Neurociencias*, 19(1), 34-41.

Ladrón de Guevara Porras, P., Morales-Vela, B., Olivera-Gómez, L.D. (2019). El manatí, una especie bajo amenaza de extinción. *Ciencia*, 70(3), 38-47.

Lazensky, R, et al. Investigating the gene expression profiles of rehabilitated Florida manatees (*Trichechus manatus latirostris*) following red tide exposure. *Plos one*, 15, e0234150 (2020).

Mandl, M., Depping, R. (2014). Hypoxia-inducible aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT)(HIF-1 β): is it a rare exception? *Molecular Medicine*, 20, 215-220.

Marshall, CD., Huth, GD., Edmonds, VM., Halin, DL., Reep, RL. (2000). Food-handling ability and feeding-cycle length of manatees feeding on several species of aquatic plants. *Journal of Mammalogy*, 81, 649-658.

Marsh, H., O'Shea, T.J., Reynolds, J. E. (2011). Ecology and conservation of the Sirenia: dugongs and manatees. Cambridge University Press.

Marsh, H., Lefebre, LW. (1994). Sirenian status and conservation efforts. *Aquatic Mammal*, 20, 155-170.

Mescher, M., Haarmann-Stemmann, T. (2018). Modulation of CYP1A1 metabolism: From adverse health effects to chemoprevention and therapeutic options. *Pharmacology and therapeutics*, 187, 71-87.



Mignucci-Giannoni, A.A., Montoya-Ospina, R.A., Jimenez-Marrero, N.M., Rodríguez-López, M.A., Williams, E.H., Bonde, R.K. (2000). Manatee mortality in Puerto Rico. *Environmental Management*, 25 (2), 189-198.

Mignucci-Giannoni, A.A., González-Socoloske, D., Álvarez-Alemán, A., Aquino, J., Caicedo-Herrera, D., Castelblanco-Martínez, D.M., Claridge, D., Corona-Figueroa, M.F., Debrot, A.O., de Thoisy, B., Espinoza-Marín, C., Galves, J.A., García-Alfonso, E., Guzmán, H., Khan, J.A., Kiszka, J.J., Luna, F.O., Marmontel, M., Olivera-Gómez, L.D., O'Sullivan, C., Powell, J.A., Pugibet-Bobea, E., Roopsind, I. and Silva, C.J. (2024). What's in a name? Standardization of vernacular names for *Trichechus manatus*. Caribbean. *Naturalist*, 98, 1-17.

Morales-Vela B., Padilla-Saldivar, JA., Mignucci-Giannoni, AA. (2003). Status of the manatee (*Trichechus manatus*) along the northern and western coasts of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Caribbean Journal of Science*, 39 (1), 42-49.

Morales-Vela, B., Olivera-Gómez, L. D., Jiménez-Domínguez, D. (2018). Unusual mortality event for manatees in the Southern Gulf of Mexico. *Sirenews*, Newsletter of the IUCN/SSC Sirenia Specialist Group, (68), 11–13.

Morales-Vela, B., Bahena-Basave, H. (2023). Los Manatíes de la Costa Maya. Chetumal, México. El Colegio de la Frontera Sur.

Morales-Vela, B., Quintana-Rizzo, E., Mignucci-Giannoni, A. (2024). *Trichechus manatus ssp. manatus*. The IUCN Red List of Threatened Species <https://www.iucnredlist.org/es/species/22103/43792740>.

Nambiar, S.P., Pillai, D., Nair, S.N., Krishnan, R. (2025). Ecotoxicological significance of cytochrome P450 in fish encompassing xenobiotic detoxification and physiological regulation. *Discover Biotechnology*, 2(1), 38.

Nelson, J. (2006). *Fishes of the world*. John Wiley and Sons. Nueva York, EUA. 601 p.



Noce, A., Fabrini, R., Dessì, M., Bocedi, A., Santini, S., Rovella, V., Pastore, A., Tesauro, M., Bernardini, S., Daniele, N. D., Ricci, G. (2014). Erythrocyte glutathione transferase activity: A possible early biomarker for blood toxicity in uremic diabetic patients. *Acta Diabetol*, 51, 219-224.

Nyman, M. (2000). Biomarkers for exposure and for the effects of contamination with polyhalogenated aromatic hydrocarbons in Baltic ringed and grey seals. University of Helsinki, Finland.

Nourisson, C., Morales-Vela, B., Padilla-Saldivar, J., Pause-Tucker, K., Clark, AM., Olivera-Gómez, L.D., Bonde, R., McGuire, P. (2011). Evidence of two genetic clusters of manatees with low genetic diversity in Mexico and implications for their conservation. *Genética*, 139, 833–842.

Olivera-Gómez, L.D., Domínguez-Jiménez, D. (2019). Diversidad de Especies: El manatí en los sistemas fluvio-lagunares, En: Cruz-Angón, A., Cruz-Medina, J., Valero-Padilla, J., Rodríguez-Reynaga, F.P., Melgarejo, E.D., Mata-Zayas, E.E., Palma-López, D.J. (Coords). La Biodiversidad en Tabasco, Estudio de estado. CONABIO, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Colegio de Posgraduados campus Tabasco, México. pp: 350-356.

Olivera-Gómez, L.D., Jiménez-Domínguez, D., Morales-Vela, B., Herrera, J.L.G. (2022). Distribución espacial del manatí en la planicie costera del sur del Golfo de México. *ERA*, 9, 25.

Operaña, T., Nguyen, N., Chen, S., Beaton, D., y Tukey, R. (2007). Human *CYP1A1* expression in transgenic mice serves as a biomarker for environmental toxicant exposure. *Toxicological Sciences*, 95, 98-107.

Parkinson, A; Ogilvie, B. W.; Buckley, D. B.; Kazmi, F.; Parkinson, O. (2019). Chapter 6. Biotransformation of xenobiotics. in Klaassen C.D. (Ed.). Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons, 193-430. The McGraw-Hill.



Pedersen, MO., Larsen, A., Stoltenberg, M., Penkowa, M. (2009). The role of metallothionein in oncogenesis and cancer prognosis. *Prog Histochem Cytochem*, 44(1), 29–64.

Pfaffl, M. W., Tichopad, A., Prgomet, C., Neuvians, T. P. (2004). Determination of stable housekeeping genes, differentially regulated target genes and sample integrity: BestKeeper–Excel-based tool using pair-wise correlations. *Biotechnology letters*, 26(6), 509-515.

Rahman, M.S., Thomas, P. (2012). Effects of hypoxia exposure on hepatic cytochrome P450 1A (*CYP1A*) expression in Atlantic croaker: molecular mechanisms of *CYP1A* down-regulation. *PLoS one*, 7(7), e40825.

Ramírez-Guevara, N.N., Rodiles-Hernández, R. (2008). Invasión de bagres armados (Siluriformes: Loricariidae) en la Cuenca del Grijalva-Usumacinta, Chiapas. XII Congreso de la Sociedad Mesoamericana para la Biología y la Conservación. San Salvador, El Salvador, 12 de noviembre de 2008.

Rathbun, G.B., Reid, J.P., Bonde, R., Powel, J.A. (1995). Reproduction in free-ranging Florida manatees. In: O'Shea T, Ackerman BB, Percival F (eds) Population biology of the Florida manatee. *National Biological Service Information and Technology Report 1*, pp 135-156.

Reep, R. L., Bonde, R. K. (2006). The Florida Manatee: Biology and Conservation. University Press of Florida.

Rodiles-Hernández H. R., S. Domínguez, C. y E. Velázquez V., 1996. Diversidad íctica del Río Lacanjá, Selva Lacandona, Chiapas, México. *Zoología Informa*, (34), 3-18.

Sabolic, I., Breljak, D., Skarica, M., Herak-Kramberger, CM. (2010). Role of metallothionein in cadmium traffic and toxicity in kidneys and other mammalian organs. *Biometals*, 23 (5), 897–926.

Satsu, H. (2019). Regulation of detoxification enzymes by food components in intestinal epithelial cells. *Food Science and Technology Research*, 25(2), 149-156.



Schreck, C. B. (2000). Accumulation and long-term effects of stress in fish. in: Moberg, G., Mench, J. (Eds.). *The biology of animal stress*, 1, 147-158.

Schwacke, L.H., Smith, C. R., Townsend, F. I., Wells, R. S., Hart, L. B., Balmer, B. C., ... Rowles, T. K. (2014). Health of common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in Barataria Bay, Louisiana, following the Deepwater Horizon oil spill. *Environmental science y technology*, 48(1), 93-103.

SEMARNAT. (2020). Programa de Acción para la Conservación de la Especie Manatí de las Antillas (*Trichechus manatus manatus*).

Silver, N., Best, S., Jiang, J., Thein, S. L. (2006). Selection of housekeeping genes for gene expression studies in human reticulocytes using real-time PCR. *BMC molecular biology*, 7(1), 33.

Spitz, J., Becquet, V., Rosen, D. A., Trites, A. W. (2015). A nutrigenomic approach to detect nutritional stress from gene expression in blood samples drawn from Steller sea lions. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 187, 214-223.

Štefanac, T., Grgas, D., Landeka Dragičević, T. (2021). Xenobiotics—division and methods of detection: a review. *J Xenobiot*, 11 (4), 130–141.

Toni, L. S., Garcia, A. M., Jeffrey, D. A., Jiang, X., Stauffer, B. L., Miyamoto, S. D., Sucharov, C. C. (2018). Optimization of phenol-chloroform RNA extraction. *MethodsX*, 5, 599-608.

Trego, M. L., Whitehead, A., Kellar, N. M., Lauf, M., & Lewison, R. L. (2019). Tracking transcriptomic responses to endogenous and exogenous variation in cetaceans in the Southern California Bight. *Conservation Physiology*, 7(1), coz018.

Vandersteen Tymchuk, W., O'Reilly, P., Bittman, J., Macdonald, D., Schulte, P. (2010). Conservation genomics of Atlantic salmon: variation in gene expression between and within regions of the Bay of Fundy. *Molecular Ecology*, 19(9), 1842-59.



	<p>VanGuilder, H.D., Vrana, K.E., Freeman, W.M. (2008). Twenty-five years of quantitative PCR for gene expression analysis. <i>Biotechniques</i>, 44(5), 619-626.</p> <p>Xu, C., Li, C. Y. T., Kong, A. N. T. (2005). Induction of phase I, II and III drug metabolism/transport by xenobiotics. <i>Archives of pharmacal research</i>, 28, 249-268.</p> <p>Zhao, M., Ma, J., Li, M., Zhang, Y., Jiang, B., Zhao, X., Huai, C., Shen, L., Zhang, N., He, L., Qin, S. (2021). Cytochrome P450 enzymes and drug metabolism in humans. <i>International journal of molecular sciences</i>, 22(23), 12808.</p>
--	--

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco



Anexo fotográfico



Toma de muestras de sangre de la aleta pectoral de *Trichechus manatus manatus* en Bahía Chetumal. Créditos: Benjamín Morales-Vela y Humberto Bahena.



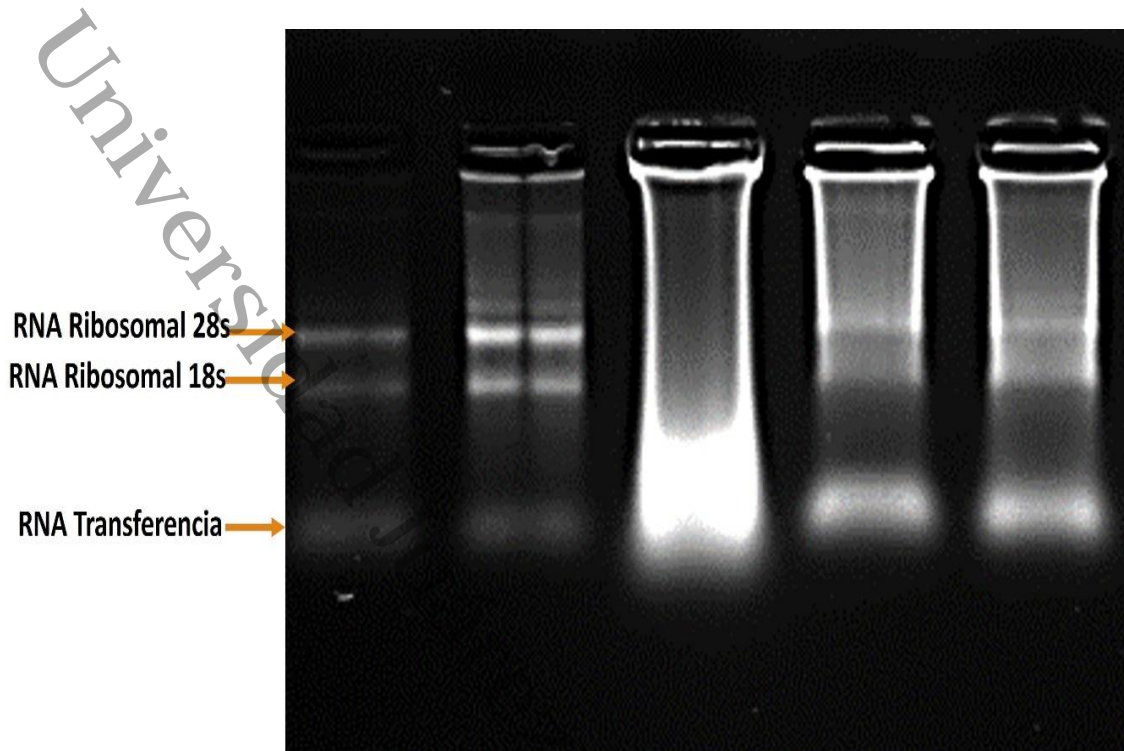
Colecta de muestras de manatíes en Bahía Chetumal. Créditos: Benjamín Morales-Vela y Humberto Bahena.



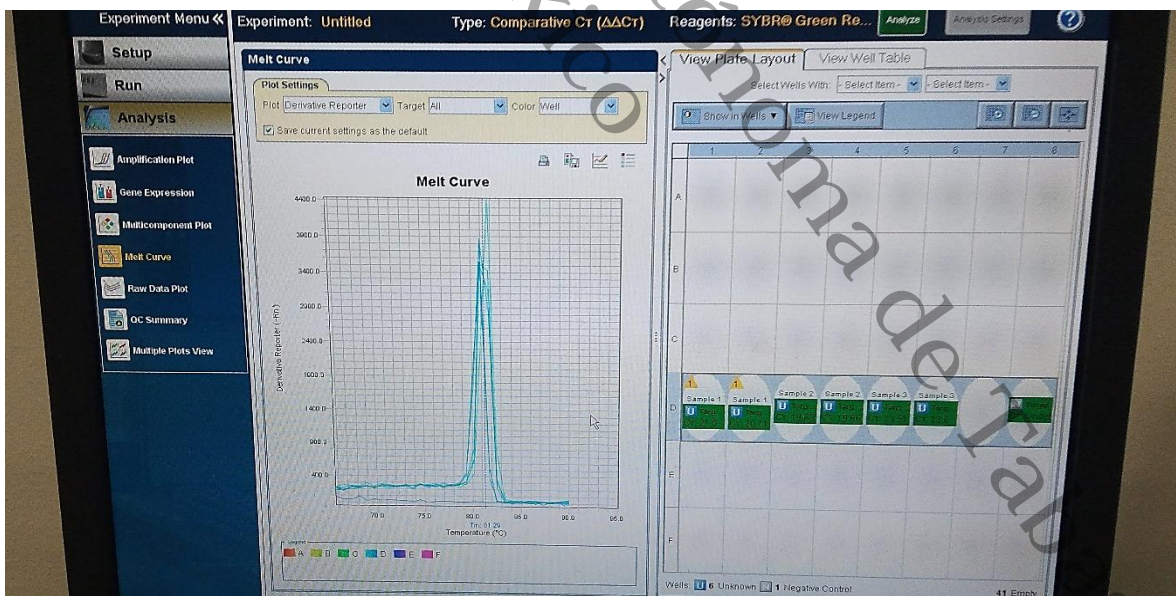
Organismo de *Ctenopharyngodon idella* analizado en este trabajo de tesis.



Organismos de *Pterygoplichthys* spp., analizados en este trabajo de tesis.



Electroforesis en gel de agarosa de ARN de muestras de hígado de peces extraídas con el método de fenol-cloroformo.



Análisis de la curva de disociación (Melt curve) realizada para verificar la especificidad de los productos de qPCR de los genes analizados en esta investigación.